

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RITA DE CÁSSIA BAIK

DESENVOLVIMENTO DE NOVO REPELENTE PARA *Aedes aegypti* SINTETIZADO
A PARTIR DO ÁCIDO LÁTICO E SEUS DERIVADOS

CURITIBA

2020

RITA DE CÁSSIA BAIÁK

DESENVOLVIMENTO DE NOVO REPELENTE PARA *Aedes aegypti* SINTETIZADO
A PARTIR DO ÁCIDO LÁTICO E SEUS DERIVADOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, Setor de Exatas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Francisco de Assis Marques

CURITIBA

2020

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

B152d

Baiak, Rita de Cássia

Desenvolvimento de novo repelente para *Aedes Aegypti* sintetizado a partir do ácido láctico e seus derivados [recurso eletrônico] / Rita de Cássia Baiak. – Curitiba, 2020.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2020.

Orientador: Francisco de Assis Marques

1. Ácido láctico. 2. Amidas. 3. Ésteres. 4. Repelentes de insetos. 5. Insetos hematófagos. 6. Mosquito. 7. *Aedes aegypti*. I. Universidade Federal do Paraná. II. Marques, Francisco de Assis. III. Título.

CDD: 661.2

Bibliotecário: Elias Barbosa da Silva CRB-9/1894

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de RITA DE CÁSSIA BAIK intitulada: **DESENVOLVIMENTO DE NOVO REPELENTE PARA *Aedes aegypti* SINTETIZADO A PARTIR DO ÁCIDO LÁTICO E SEUS DERIVADOS**, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 18 de Fevereiro de 2020.



FRANCISCO DE ASSIS MARQUES

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



PALIMÉCIO GIMENES GUERRERO JÚNIOR

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ)



SÔNIA FÁRIA ZAWADZKI

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus e aos meus pais e familiares.

Agradeço também ao professor Francisco, pela oportunidade de realizar esse projeto em seu laboratório, por toda a orientação e apoio nesse período.

À equipe do grupo de pesquisa do professor Dr. Mario Antônio Navarro da Silva, coordenador do Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae da UFPR, pela concessão do uso de seu laboratório e dos mosquitos adultos de *Aedes aegypti*, necessários para os testes de repelência.

A todos meus colegas de laboratório, por toda ajuda e paciência a mim concedida.

Aos professores Palimecio Gimenes Guerrero Junior e Sônia Faria Zawadzki por gentilmente aceitarem a participação na banca.

Agradeço o apoio financeiro decorrente do projeto intitulado “Inovação em produtos de controle e repelência do vetor e no monitoramento de arbovírus”, Chamada MCTI-CNPq/MEC-CAPES/ MS-Decit Nº 14/2016 - Prevenção e Combate ao vírus Zika.

Agradeço por fim à UFPR, ao PPGQ e aos órgãos e instituições de fomento. Agradeço a todos os demais que, direta ou indiretamente, ajudaram na realização desse trabalho.

“Uma das grandes revelações da exploração espacial é a imagem da Terra, finita e solitária acomodando toda a espécie humana através dos oceanos do tempo e do espaço.”

- Carl Sagan.

RESUMO

Nesse trabalho foram sintetizados alguns compostos contendo as funcionalidades éster e amida, derivadas do ácido láctico e lactato de etila, os quais tiveram suas atividades de repelência frente ao mosquito *Aedes aegypti* avaliadas. Duas das substâncias apresentaram repelência comparada à da icaridina, repelente de melhor eficiência encontrado no mercado mundial.

O efeito do estereocentro presente na substância selecionada para se efetuar os estudos de repelência começou a ser investigado e, a priori, a mistura racêmica mostrou atividade pouco inferior à apresentada pelo estereoisômero de maior abundância natural, o isômero S.

Um estudo visando a síntese desse repelente em condições que minimizem os passivos ambientais, normalmente produzidos em um processo de síntese, foi realizado e resultou na execução da primeira etapa sem solvente. As condições reacionais para se efetuar a segunda etapa, reação de acilação sem solvente, foram otimizadas usando catalisador heterogêneo sob irradiação por micro-ondas em um composto modelo e na síntese do repelente principal, gerando resultados promissores.

Palavras-chave: Ácido láctico, amidas, ésteres, repelentes, mosquitos hematófagos, *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

In the present work, some compounds containing the functional groups ester and amide were synthesized derived from lactic acid and ethyl lactate. Those compounds had their repellent activities against the *Aedes aegypti* mosquito evaluated. Two of them presented a repellency close to icaridine, the best efficiency repellent found in the world market today.

The effect of the stereocenter present in those selected compounds in the repellent activity started being investigated and the racemic mixture showed an activity slightly lower than that presented by the stereoisomer with greater natural abundance, the *S* isomer.

A study aimed at the synthesis of this repellent in conditions that minimize the environmental liabilities, usually produced in a synthesis process, was realized and resulted in the execution of the first step without the presence of a solvent. The reactional conditions for carrying the second step, a solventless acylation reaction, were optimized using a heterogeneous catalyst under microwave irradiation in a model compound and also in the synthesis of the main repellent, yielding a promising result.

Keywords: lactic acid, amide, ester, repellent, hematophagous mosquitoes, *Aedes aegypti*.

LISTA DE SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

MIP – Manejo Integrado de Pragas

OECD – Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico

ONU – Organização das Nações Unidas

WHO – World Health Organization

d= dupleteo

dt = duplo tripleto

m = multipleto

q = quarteto

sl =simpleto largo

s = simpleto

t = tripleto

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação do ciclo de vida do <i>Aedes aegypti</i> .	6
Figura 2 - Estrutura do citronelal.	8
Figura 3 - Estruturas de algumas das primeiras substâncias empregadas como repelentes.	10
Figura 4 - Estrutura do repelente N,N-dietil-3-metilbenzamida (DEET).	10
Figura 5 - Estrutura da Icaridina.	11
Figura 6 - Estrutura da β -alanina e do repelente IR 3535.	12
Figura 7 - Estrutura do ácido láctico	14
Figura 8 - Síntese química do ácido láctico através da hidrólise da lactonitrila.	15
Figura 9 - Síntese do (S)-lactato de etila.	16
Figura 10 - Posicionamento da mão na gaiola durante os testes a serem realizados.	27
Figura 11 - Mecanismo de reação para a acilação de álcoois secundários reagindo com anidridos.	28
Figura 12 - Espectro de fragmentação de massas do produto de acilação (Produto 1).	29
Figura 13 – Proposta de fragmentação para formação do pico com $m/z = 87$	30
Figura 14 – Proposta de fragmentação α recorrente em ácidos carboxílicos.	30
Figura 15 – Proposta de fragmentação para formação do íon acílio.	30
Figura 16 - Espectro de RMN (200 Hz) de ^1H do produto 1, utilizando CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.	31
Figura 17 - Região expandida do espectro de ^1H do produto 1, entre a região de 1,0 ppm até 5,5 ppm.	32
Figura 18 - Espectro de RMN (50 Hz) de ^{13}C do produto 1, utilizando CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.	33
Figura 19 - Espectro de fragmentação de massas do produto 4a.	34
Figura 20 – Proposta de fragmentação mostrando a formação do pico com $m/z = 127$.	34
Figura 21 – Proposta de fragmentação mostrando a formação do pico base.	34
Figura 22 – Proposta de fragmentação com perda da porção amina.	35
Figura 23 – Formação do cátion acílio derivado do radical acetila.	35
Figura 24 - Espectro de RMN (200 Hz) de ^1H do produto 4a, utilizando CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.	36
Figura 25 - Região expandida do espectro de RMN de ^1H do produto 4a na região de 3 ppm a 5,5 ppm.	36
Figura 26 - Região expandida do espectro de RMN de ^1H , na região entre 0,7 ppm a 2,5 ppm.	37
Figura 27 - Espectro de RMN (50 Hz) de ^{13}C do produto 4a.	38

Figura 28 - Mecanismo da esterificação de Fischer.	40
Figura 29 - Mecanismo de reação de formação de amida a partir de éster.	41
Figura 30 - Reação de acilação da amida sintetizada com anidrido butírico.	42
Figura 31 - Gráfico de porcentagem de conversão de produto das hidroxi amidas nos derivados acilados	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Algumas estruturas químicas e substâncias representativas utilizados no controle de pragas.....	7
Tabela 2 - Rendimento e tempo de repelência de cada produto obtido.....	39
Tabela 3 - Rendimento e tempo de repelência de cada produto obtido a partir da hidroxí amida.	42
Tabela 4 - Níveis e variáveis utilizados para a análise multivariada da reação de acilação das hidroxí amidas.....	43
Tabela 5 – Resultado do planejamento experimental realizado.	43
Tabela 6 - Níveis e variáveis utilizados para a análise multivariada na reação de acilação usando catalisador heterogêneo e micro-ondas.....	46
Tabela 7 – Resultado do planejamento fatorial realizado em microondas.	46
Tabela 8 - Diferenças na atividade biológica do composto enantiomericamente puro e o racemato.....	47
Tabela 9 - Testes de repelência realizados com diferentes formulações.	48

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	5
1.1 CICLO DE VIDA DO Aedes Aegypti	6
1.2 INSETICIDAS NATURAIS E SINTÉTICOS	6
1.3 ATIVIDADE REPELENTE	8
1.4 N,N-DIETIL-3-METILBENZAMIDA (DEET)	10
1.5 ICARIDINA.....	11
1.6 BUTILACETILAMINOPROPIONATO DE ETILA (IR 3535).....	11
1.7 QUÍMICA VERDE	12
1.8 ÁCIDO LÁTICO.....	14
1.9 LACTATO DE ETILA.....	15
1.10 QUIRALIDADE.....	16
2 OBJETIVOS.....	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1 PROCEDIMENTO GERAL PARA AS ACILAÇÕES DO ÁCIDO LÁTICO	19
3.2 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DAS AMIDAS DERIVADAS DE AMINAS SECUNDÁRIAS.....	20
3.3 PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DA AMIDA DERIVADA DE AMINAS PRIMÁRIAS	
22	
3.4 SÍNTESE DOS ÉSTERES AMIDAS A PARTIR DO (L)-LACTATO DE ETILA.....	23
3.4.1 REAÇÃO DE AMIDAÇÃO	23
3.4.2 PROCEDIMENTO GERAL PARA AS ACILAÇÕES DA AMIDA DERIVADA DO (L)-LACTATO DE ETILA	23
3.4.3 PROCEDIMENTO DE ACILAÇÃO DA AMIDA DERIVADA DO (L)-LACTATO DE ETILA SOB IRRADIAÇÃO MICRO-ONDAS.....	25
3.5 OXIDAÇÃO DE SWERN.....	25
3.6 REDUÇÃO COM BORO-HIDRETO DE SÓDIO	26
3.7 TESTE DE REPELÊNCIA.....	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
4.1 OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DAS SUBSTÂNCIAS DE INTERESSE A PARTIR DO (L)-LACTATO DE ETILA	40
4.2 PLANEJAMENTO FATORIAL.....	42
4.3 UTILIZAÇÃO DE CATALISADORES HETEROGÊNEOS PARA A REAÇÃO DE ACILAÇÃO	44

4.4 ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ENANTIÔMEROS	47
4.5 FORMULAÇÃO EM CREME DO REPELENTE	48
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
REFERÊNCIAS	51
ANEXO I – ESPECTROS SELECIONADOS.....	58

1 INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* é proveniente da África e dotado de grande capacidade de adaptação, sendo o principal vetor transmissor de doenças como dengue ^[1,2], Chikungunya^[3], Zika^[4], sendo também responsável pela transmissão da febre amarela urbana^[5].

As razões para o ressurgimento global dessas epidemias não são completamente compreendidas, mas estão relacionadas às mudanças demográficas e sociais, incluindo o aumento do fluxo populacional^[6-8]. O crescimento da população, a migração rural-urbana e a infraestrutura urbana básica inadequada são alguns dos fatores responsáveis pelas condições que favorecem a transmissão do vírus pelo mosquito *A. aegypti*^[9,10].

Acredita-se que 3,9 bilhões de pessoas, em 128 países, estão em risco de infecção pelo vírus da dengue^[11]. Além disso, estima-se que cerca de 390 milhões de pessoas são infectadas anualmente, das quais 96 milhões manifestam aparentemente algum nível de gravidade da doença^[12]. A incidência de dengue tem crescido gravemente em todo o mundo nas últimas décadas. Os números reais de casos são desconhecidos, pois muitos podem estar subnotificados e muitos casos são classificados erroneamente^[13].

Desde 1994, no Brasil, tem ocorrido uma rápida dispersão do vetor sobre uma grande área, o que levou a uma circulação viral em vários estados e causou um rápido aumento da extensão da doença^[12]. Em 2019, até o mês de setembro foram registrados 1.439.471 casos prováveis de dengue no Brasil, com a região Centro-Oeste registrando o maior número de casos. Nesse mesmo ano foram também relatados no país 110.627 casos prováveis de febre Chikungunya e 9.813 casos prováveis de Zika no país^[14].

Enquanto se aguarda a disponibilidade de uma vacina eficaz ou drogas antivirais específicas contra os quatro sorotipos da dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3, e DEN-4)^[1,13], chikungunya^[3,15] e zika^[4], a única forma de reduzir a incidência destas doenças se restringe ao controle do vetor *A. aegypti*^[16], que frequentemente depende de aplicações de inseticidas sintéticos convencionais^[17].

Existem três estratégias principais para o controle de mosquitos *A. aegypti*^[10,18]:

- O controle mecânico, que visa diminuir os potenciais criadouros do mosquito, impedindo o desenvolvimento do ciclo de vida do inseto. Esta estratégia é baseada na remoção de potenciais criadouros com água parada. O método também consiste em armadilhas para eliminar e monitorar a população do mosquito.
- O controle biológico, que consiste em utilizar um inimigo natural específico, como por exemplo algumas espécies de peixes, parasitas, alguns tipos de fungos e nematoides, contribuindo para diminuir a população de larvas ou do mosquito adulto.

- O controle químico, que está diretamente ligado ao uso de algum tipo de substância que inibe a eclosão de ovos, que atuam como reguladores de crescimento de larvas ou eliminam o mosquito adulto. Substâncias com ação repelente também se enquadram nesta categoria.

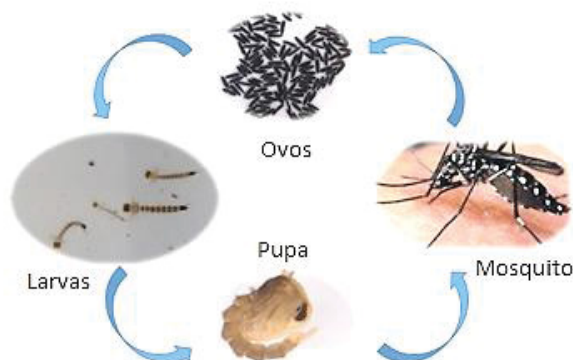
1.1 CICLO DE VIDA DO *Aedes Aegypti*

A fêmea do mosquito *A. aegypti* deposita seus ovos nos mais diferentes locais, desde paredes ásperas, umedecidas e escurecidas de recipientes, mas também pode ser diretamente na água, ou ainda, sob condições laboratoriais, podem depositar em papel sulfite, papel filtro, papel manteiga e papel toalha. Os ovos podem permanecer sem eclodir por um grande período de tempo, aguardando até ter contato com a água^[10,19].

Após a eclosão do ovo o *A. aegypti* torna-se uma larva, que passa por quatro estágios (1º a 4º instar) até se tornar pupa (Figura 1). Esta fase destaca-se pela inexistência de alimentação e pela metamorfose que marcará o início da fase adulta^[20].

A fêmea do *A. aegypti* necessita de alimentação sanguínea para completar o processo de amadurecimento do folículo ovariano e, após alguns dias, a fêmea já está apta a realizar a deposição fechando o ciclo do mosquito^[10]. A Figura 1 ilustra as diversas fases do ciclo de vida do *A. aegypti*.

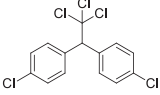
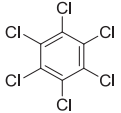
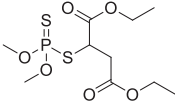
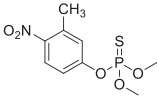
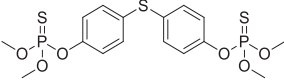
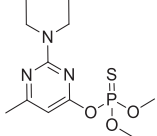
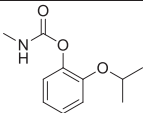
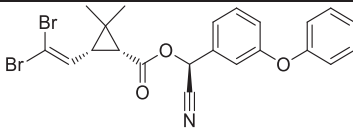
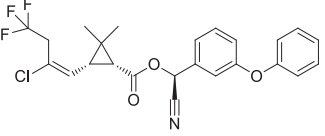
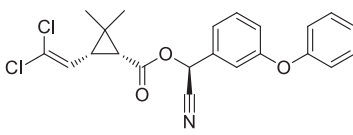
Figura 1 – Representação do ciclo de vida do *Aedes aegypti*.



1.2 INSETICIDAS NATURAIS E SINTÉTICOS

O uso continuado de inseticidas, tanto na agricultura e pecuária como na área da Saúde Pública, tem provocado o aparecimento de populações resistentes e ocasionado problemas para o controle de vetores^[16,21]. A Tabela 1 apresenta os grupos mais comuns usados para este fim, entre eles o DDT e o BHC que foram amplamente utilizados, porém hoje não são mais empregados para o controle de vetores^[22].

Tabela 1 - Algumas estruturas químicas e substâncias representativas utilizados no controle de pragas.

Grupo Químico	Nome Comercial	Princípio Ativo	Estrutura
Clorados	-	DDT	
	-	BHC	
Fosforados	<i>Cythion, Fyfanon, Malatol</i>	Malation	
	<i>Sumithion, Folithion</i>	Fenitrothion	
	Abate	Temefós	
	-	Pirimifos	
Carbamatos	<i>Baygon</i>	Propoxur	
Piretroides	<i>K-Othrine</i>	Deltametrina	
	<i>Icon</i>	Lambda cialotrina	
	<i>Cymerator</i>	Cipermetrina	

Para substituir os organoclorados foram utilizados os organofosforados como: malation, fenitrothion e temefós. Depois foram utilizados os piretróides cipermetrina e deltametrina, devido à alta eficiência contra mosquitos adultos e por serem necessárias menores quantidades do princípio ativo, porém a desvantagem está no alto impacto ambiental e no alto custo dos piretróides. O monitoramento dos inseticidas em diferentes

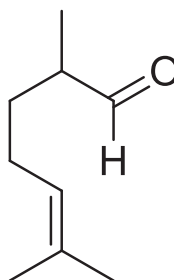
áreas do país é uma estratégia importante para ampliar o conhecimento sobre os mecanismos de resistência e para o controle dos níveis de infestação^[10].

Devido aos problemas acarretados com o uso excessivos dos inseticidas em geral organoclorados e organofosforados, começou-se a vislumbrar a possibilidade de controle alternativos de pragas através do seu manejo integrado (MIP).

O MIP é o sistema que associa o ambiente e a dinâmica populacional da espécie, utiliza alternativas apropriadas e métodos de forma tão compatível quanto possível para manter a população da praga em níveis abaixo daqueles capazes de causar danos econômicos. A importância da biologia e da ecologia não está associada só na espécie-alvo, mas também nos inimigos naturais e nos diferentes meios do ecossistema^[23].

Como parte destas estratégias, destaca-se o uso de óleos essenciais, que são produtos geralmente pouco tóxicos e que podem atuar somente alterando o comportamento dos organismos alvos^[24]. Dentre os mais utilizados, destaca-se o uso de óleo essencial de citronela com altos teores de citronelal em repelentes comerciais. A estrutura do citronelal está representada na Figura 2.

Figura 2 - Estrutura do citronelal.



Poucas pesquisas têm sido desenvolvidas sobre o efeito de fitoquímicos em mosquitos adultos. A bioatividade de fitoquímicos contra o mosquito pode variar significativamente dependendo da espécies de plantas^[25]. Os resultados de um estudo com extratos de plantas sugerem que a ação adulticida é um campo de pesquisa com grande potencial e ainda pouco explorado.

1.3 ATIVIDADE REPELENTE

Os repelentes podem ser definidos como substâncias químicas voláteis que induzem os artrópodes a se moverem na direção oposta às superfícies previamente tratadas, fazendo-os serem repelidos. Esses produtos se apresentam para os consumidores com uma infinidade de formulações e aplicações, como aerossóis, cremes, sprays, e telas ou roupas impregnadas^[26].

Idealmente, um repelente precisa ter as seguintes características:

- Ter uma efetividade duradoura contra uma grande variedade de artrópodes;
- Ser inócuo para o ser humano após aplicação na pele ou nas roupas;

- Não apresentar cheiros ou ter odor agradável;
- Ao ser aplicado na pele, não deixar uma sensação oleosa e resistir à remoção por fricção, lavagem ou suor;
- Ser inerte ao entrar em contato com plásticos de uso comum (como armações de óculos, canetas, etc);
- Ser quimicamente estável e economicamente viável para uso difundido.

Todos os repelentes exibem algum grau de volatilidade, e o ponto de ebulição das substâncias com ação repelente costuma ficar entre 230 °C e 260°C. Compostos com um ponto de ebulição menor se dissipam mais facilmente e apresentam tempo de repelência reduzido e compostos com pontos de ebulição mais altos são ineficazes pois não volatilizam em taxa efetiva para exercerem o efeito desejado^[27].

A maioria dos repelentes, assim que são aplicados na pele ou na roupa, em uma área pequena ao redor da aplicação, agem produzindo uma camada de vapor que cria uma superfície desagradável ou ofensiva para os mosquitos, porém também existem os repelentes que agem neutralizando os compostos que atraem os artrópodes para os humanos, agindo como uma camuflagem^[26].

O tempo de repelência depende de vários fatores e cada composto tem uma proteção intrínseca diferente que varia entre espécies de mosquito. No momento da aplicação, há um período em que a substância repele todos os mosquitos e não há observação de pouso ou picadas, seguido de um período em que a substância começa a perder alguns dos seus efeitos, permitindo que os mosquitos pousem na pele tratada. Quando o repelente perde totalmente sua eficácia é quando as picadas ocorrem^[28].

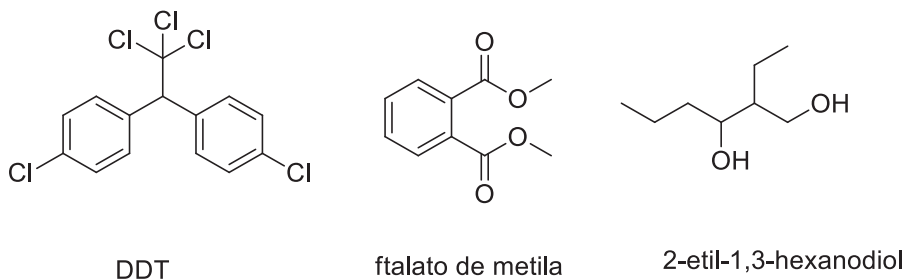
O uso de repelentes remonta à antiguidade, quando se queimavam plantas para utilizar a fumaça, ou a extração de óleos para se utilizar na repelência de insetos. Inúmeras plantas e seus derivados, em particular óleos essenciais, já foram investigados e descritos como fontes naturais em potencial para repelentes de insetos^[29].

Os repelentes provenientes de fontes naturais vendidos atualmente no mercado costumam conter uma mistura de óleos obtidos da citronella (*Cymbopogon nardus*), eucalipto (*Eucalyptus maculata*), gerânio (*Pelargonium reniforme*), capim limão (*Cymbopogon citratus*), dentre outros. Apesar de os repelentes naturais terem um efeito pouco duradouro em relação aos sintéticos, sua toxicidade costuma ser mais baixa, o que justifica os esforços feitos no sentido de buscar compostos com atividade de repelência em extratos vegetais^[29,30].

Para os repelentes obtidos sinteticamente, os estudos foram iniciados e vários compostos foram testados no período da Segunda Guerra Mundial. Até 1942, os compostos DDT (diclorodifeniltricloroetano), DMP (ftalato de dimetila) e Rutgers 612 (2-etil-1,3-hexanodiol), com suas estruturas apresentadas na Figura 3, foram liberados para uso

do exército americano, com uma repelência de duas horas. Porém, seus usos foram vetados mais tarde devido à observações de toxicidade^[31,32].

Figura 3 - Estruturas de algumas das primeiras substâncias empregadas como repelentes.

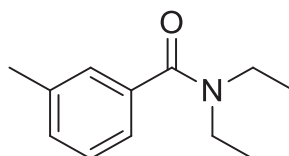


Em 1946, iniciou-se a utilização do N,N-dietil-3-metilbenzamida (DEET), repelente considerado o padrão de referência até os dias de hoje e que, juntamente com a icaridina e o IR 3535, são os mais recomendados e vendidos^[33].

1.4 N,N-DIETIL-3-METILBENZAMIDA (DEET)

O DEET (Figura 4), é um dos princípios ativos de repelentes mais antigo e utilizado. Foi avaliado pela primeira vez em 1944 (contra *A. aegypti*) e patenteado pelo exército americano em 1946. Depois de novos estudos em 1952, foi finalmente lançado no mercado em 1954 e passou a ser usado amplamente em 1957. Atualmente existem cerca de 140 produtos contendo DEET registrados na Agência de Proteção Ambiental americana, fabricados por 40 empresas^[34].

Figura 4 - Estrutura do repelente N,N-dietil-3-metilbenzamida (DEET).



Esse repelente atua diminuindo a resposta dos insetos atraídos pelo ácido láctico (liberados por meio da transpiração), o que pode classificá-lo como um inibidor comportamental que reduz a atração ao invés de ativar um comportamento de repelir^[35]. Segundo Legeay et al^[36], estudos realizados em diferentes espécies de artrópodes indicam que o DEET atua como um estímulo sensorial e pode ser detectado pelos neurônios do receptor olfativo presente nas antenas de diferentes espécies, tornando esse repelente eficiente contra uma grande variedade de insetos.

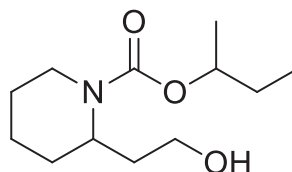
Sua maior vantagem é o baixo custo e efeito duradouro que, em uma concentração de 20-30% do composto, pode durar mais de 6 h. Entretanto, entre os repelentes

atualmente disponíveis, sua toxicidade é a mais alta. Está descrito que o DEET pode causar danos em fibras sintéticas das roupas, plásticos e acrílicos, além de não ser recomendado para uso de grávidas ou crianças menores de dois anos, por causar diversas formas de alergias cutâneas^[37].

1.5 ICARIDINA

Também conhecido como picaridina, é um princípio ativo derivado da pimenta cuja estrutura está representada na Figura 5. É um repelente de uso amplo e eficaz contra mosquitos, moscas, carrapatos, etc. Por evaporar de uma forma mais lenta na pele, oferece um tempo de repelência maior que a do DEET, além de ser mais efetivo para mosquitos do gênero *Aedes*^[37].

Figura 5 - Estrutura da Icaridina.



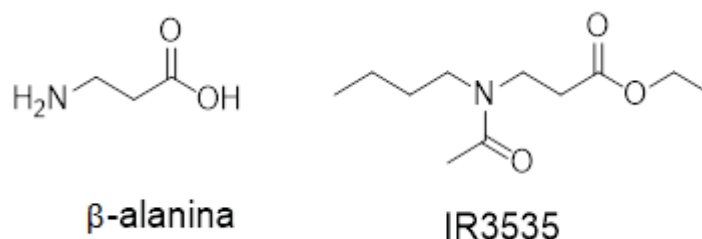
A concentração mínima para a ação de repelência começa em 5% e, em uma concentração de 20%, ele oferece uma proteção de até 10 h. É um repelente sem odor, não oleoso, não causa danos em plásticos e acrílicos e a utilização em crianças menores de seis meses é permitida. Apesar disso, pode danificar alguns materiais e roupas de couro animal^[37].

A icaridina possui dois estereocentros e é comercializada como uma mistura de estereoisômeros^[38].

1.6 BUTILACETILAMINOPROPIONATO DE ETILA (IR 3535)

Disponível desde 1980, o Butilacetilaminopropionato de etila (IR 3535) tem sua estrutura química baseada em uma substância natural (β -alanina), conforme pode ser observado na Figura 6. Ele é efetivo contra mosquitos, moscas, carrapatos, piolhos, vespas e abelhas. Sua eficácia é pouco menor em comparação ao DEET, se utilizado em uma concentração acima de 10%^[26].

Figura 6 - Estrutura da β -alanina e do repelente IR 3535.



Seu mecanismo de ação consiste em formar uma barreira de vapor que previne o contato de insetos com a pele devido ao odor ofensivo que a substância apresenta aos mesmos, apesar de não apresentar cheiro aos seres humanos. Apesar de ser efetivo por um tempo menor, ele tem um perfil toxicológico muito menor, podendo ser utilizado por crianças pequenas e mulheres grávidas^[37].

Algo possível de se observar em todas as estruturas anteriormente apresentadas é que todas elas tem alguns grupos funcionais em comum, como por exemplo, o grupo amida e o grupo éster.

Alguns trabalhos já exploraram a influência desses grupos para a propriedade de repelência apresentada por esses compostos, consistindo na avaliação de análogos dos repelentes utilizados comercialmente^[39,40].

1.7 QUÍMICA VERDE

Com início na revolução industrial, o desenvolvimento tecnológico desenfreado desencadeou diversos problemas relacionados à formação de subprodutos tóxicos e à contaminação do ambiente e dos próprios seres humanos expostos a esses rejeitos. Atualmente, a indústria química e farmacêutica são consideradas as principais causadoras desses impactos ambientais, ainda que outras atividades humanas também exerçam papel importante nesse contexto^[41,42].

Por esse motivo, nos anos setenta, um forte movimento envolvendo as questões ambientais teve início, como o primeiro movimento institucional a favor do uso de tecnologias limpas, liderado pela ONU/OECD, ocorrido em 1976, no qual foi proposto um conceito para a abordagem: “A aplicação do conhecimento prático, métodos e meios para atender às necessidades humanas, objetivando o uso racional dos recursos naturais e de energia para a proteção ambiental”^[43].

Desde então, várias conferências sobre o meio ambiente surgiram, com destaque para a ECO 92, a partir da qual se tornou conhecido, através da Agenda 21, o conceito de desenvolvimento sustentável, que pode ser definido como o progresso industrial que atende às necessidades do presente sem comprometer a capacidade das futuras gerações de satisfazerem as suas próprias^[43,44].

Visto que as atividades produtivas na área de química muitas vezes são potenciais poluidoras, trabalhando com substâncias tóxicas e/ou inflamáveis e que geram no final do processo um resíduo não aproveitável e danoso ao ambiente, o capítulo 30 da Agenda 21 propõe uma produção limpa juntamente com uma responsabilidade empresarial. Nesse cenário está inclusa a química verde^[45].

A química verde, segundo Lenardão et al^[44] pode ser definida como “desenho, desenvolvimento e implementação de produtos químicos e processos para reduzir ou eliminar o uso ou geração de substâncias nocivas à saúde humana e ao ambiente” e já é comum em aplicações industriais e no meio acadêmico, no ensino e pesquisa.

A filosofia desse conceito está atualmente baseada nesses doze princípios:

1. **Prevenção:** Se há diminuição ou escassez de resíduos (lixo), automaticamente diminuimos a necessidade de tratá-los e, consequentemente, diminuimos o seu descarte na natureza.
2. **Economia atômica:** É a chamada síntese verde, na qual toda a massa dos reagentes é convertida em produtos, não produzindo, assim, resíduos a serem descartados.
3. **Síntese de produtos menos perigosos:** Durante uma reação química, devemos utilizar substâncias e formar outras que não apresentem nenhum nível de toxicidade nem para o homem nem para o meio ambiente.
4. **Desenho de produtos seguros:** É um princípio que se volta para o planejamento da reação química que se quer desenvolver para impedir a formação de resíduos ou substâncias tóxicas.
5. **Solventes e auxiliares mais seguros:** se não houver a alternativa de realizar um procedimento sem a presença de solvente, deve-se buscar a utilização de solventes com baixo impacto ambiental.
6. **Busca pela eficiência de energia:** Deve-se utilizar uma menor quantidade de energia ou utilizar energia provinda de fonte renovável.
7. **Uso de fontes renováveis de matéria-prima:** A realização de uma reação química deve ser feita por meio da utilização de matérias-primas renováveis ou mesmo com materiais que foram reciclados.
8. **Evitar a formação de subprodutos:** Esse princípio indica a utilização de algumas substâncias nos processos de síntese, os chamados bloqueadores, para impedir que uma reação química aconteça em mais de uma etapa.
9. **Catálise:** Esse princípio envolve a ideia de que podemos reduzir o tempo de processamento de uma reação por meio de catalisadores.

10. **Desenho para a degradação:** É necessário desenvolver substâncias químicas que, quando sofrerem a degradação, transformem-se em substâncias inócuas.
11. **Análise em tempo real para prevenção da poluição:** Durante a realização de um processo químico, devemos estar constantemente atentos para que qualquer problema possa ser detectado e corrigido imediatamente, a tempo de evitar qualquer dano ou resíduo no final do processo.
12. **Química intrinsecamente segura para a prevenção de acidentes:** É o princípio que defende a utilização de todos os outros onze já especificados, pois, com isso, dificilmente acidentes acontecerão durante qualquer processo^[44].

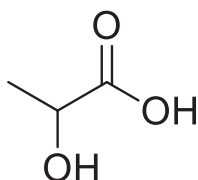
Portanto, uma síntese orgânica ideal não deve levar em conta somente o rendimento final e a pureza do produto, devendo também incorporar esses princípios, tendo a questão ambiental e o reaproveitamento de rejeitos um grande impacto na eficiência do projeto^[46].

A substituição de reagentes ou catalisadores por outros menos nocivos faz parte da filosofia da química verde, e nesse contexto, a utilização de um precursor como o ácido láctico ou o lactato de etila apresenta diversas vantagens.

1.8 ÁCIDO LÁCTICO

Além do CO₂ e outros compostos químicos como o 1-octen-3-ol presentes na transpiração e no odor corporal de todos os animais de sangue quente, o ácido láctico (Figura 7) é um atrativo essencial para as fêmeas de *A. aegypti* após a cópula^[47]. A quantidade de ácido láctico produzida por humanos é maior do que em outros mamíferos, e a contribuição dessa substância na atração que é exercida no artrópode se deve ao quanto dela é liberada^[48].

Figura 7 - Estrutura do ácido láctico



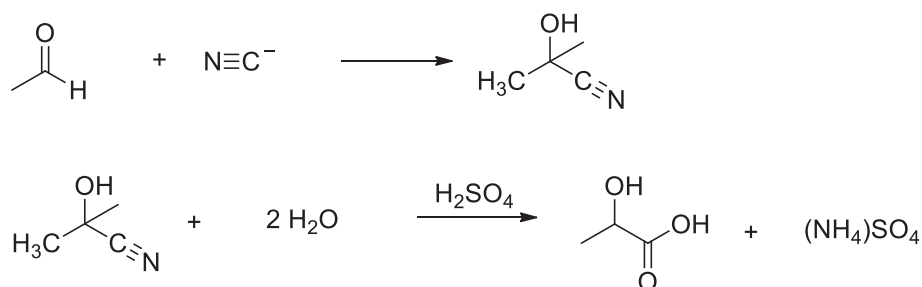
Sendo um dos ácidos orgânicos mais importantes e utilizado mundialmente em aplicações industriais e biotecnológicas, vários métodos para sua síntese já foram introduzidos e otimizados. Sua primeira descoberta foi relatada em 1780, pelo químico sueco Carl Wilhelm Scheele, que isolou um xarope de cor amarelada de leite azedo. Por

um longo período, até 1857, considerava-se que o ácido láctico era um componente do leite, até que Pasteur descobriu outro fenômeno e concluiu que ele era um metabólito de fermentação gerado pela atuação de certos micro-organismos. Em 1881, o ácido láctico foi produzido por fermentação e isso deu origem à primeira produção industrial de ácido láctico por um processo microbiano nos Estados Unidos^[49].

Desde então, sua utilização na indústria alimentícia, farmacêutica, dentre outras, vem aumentando^[49].

O ácido láctico pode ser fabricado comercialmente tanto por fermentação biológica quanto pela condensação entre acetaldeído e o ânion cianeto^[50]. O método sintético mais comum é com base na hidrólise da lactonitrila, que está ilustrado na Figura 8^[51].

Figura 8 - Síntese química do ácido láctico através da hidrólise da lactonitrila.

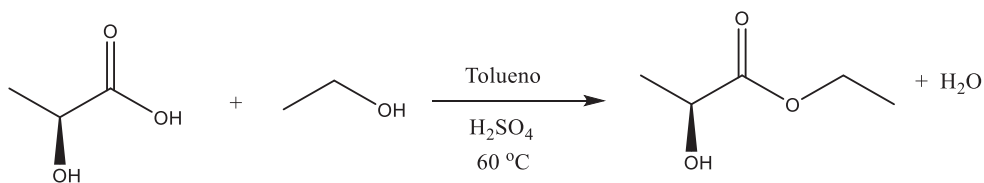


Uma das desvantagens dessa síntese é que sempre se produz uma mistura racêmica do ácido láctico. Por outro lado, um ácido como pureza ótica elevada pode ser obtido pelo método de fermentação microbiana. Atualmente, aproximadamente 90% do ácido láctico é produzido a partir da fermentação, sendo que através desse processo se obtém normalmente o estereoisômero de configuração S como majoritário. Com o desenvolvimento da bioconversão em escala industrial e a utilização de micro-organismos adequados para esse processo, a rota fermentativa tornou-se a dominante pelas vantagens de ser ambientalmente mais aceita e pela alta pureza ótica do produto obtido^[50].

1.9 LACTATO DE ETILA

O lactato de etila ultimamente tem chamado muita atenção por sua extensa utilização como uma alternativa ambientalmente benigna aos solventes comumente utilizados em processos químicos^[52]. Sua produção convencional se dá pela reação de esterificação entre o ácido láctico e etanol utilizando ácido como catalisador, conforme Figura 9.

Figura 9 - Síntese do (S)-lactato de etila.



É uma substância barata, atóxica, biodegradável e provém de fontes renováveis, tendo propriedades que permitem sua utilização na produção de polímeros, como por exemplo, na produção de plásticos biodegradáveis ou para a produção de chips semicondutores em computadores e outros aparelhos eletrônicos^[53].

1.10 QUIRALIDADE

A origem do conceito isomeria se deu em 1830, após o químico Jöns Jacob Berzelius observar em uma síntese orgânica, compostos com mesma fórmula molecular, mas com propriedades físicas e químicas diferentes. Com auxílio do químico Justus von Liebig, que já havia observado esse fenômeno em 1824, a explicação dada por Berzelius foi que os compostos apresentavam a mesma composição química, porém, a disposição dos átomos em tais compostos era diferente^[54].

A descoberta da isomeria ótica, em particular, também ocorreu no século XIX, quando o físico francês Jean Baptiste Biot observou a possibilidade de moléculas oticamente ativas com mesma fórmula química desviarem o plano da luz polarizada de maneira diferente^[55].

Existem várias classificações diferentes dentro da isomeria (de cadeia, de posição, geométrica, etc) e a seguir será discutido sobre estereoisomeria.

A isomeria ótica, normalmente, está relacionada à presença de pelo menos um centro estereogênico, dotado de orientação espacial específica, em que o átomo central se encontra ligado a quatro substituintes diferentes. Moléculas com um centro estereogênico denominadas enantiômeros se caracterizam por serem imagens especulares não sobreponíveis^[55]. A quiralidade também está presente em moléculas que não apresentam estereocentros, como é o caso dos atropoisômeros, por exemplo^[56].

Enantiômeros apresentam desvios polarimétricos opostos de mesma magnitude: + α (+) ou D; - α (-) ou L, em que o ângulo de rotação α é apenas a rotação observada. Quando se tem a presença dos dois enantiômeros em mesma proporção, isso resulta em um valor zero do ângulo de rotação, e a mistura é chamada de racemato ou mistura racêmica^[57].

Moléculas que apresentam dois ou mais centros estereogênicos podem apresentar diastereoisomeria^[57], assim como moléculas que apresentam dupla ligação entre átomos de carbono

Existe uma estreita relação entre estereoquímica e atividade biológica, como é notoriamente conhecido para o caso dos fármacos, por exemplo^[58]. No caso dos repelentes, poucos resultados são encontrados na literatura^[59] e a única substância de origem sintética comercializada que apresenta estereocentros é a Icaridina que, conforme já mencionado, utiliza uma mistura de todos os isômeros na formulação do produto comercial.

Portanto, o objetivo desse trabalho foi realizar a síntese de um novo repelente funcional frente ao mosquito *A. aegypti* a partir, inicialmente, do ácido láctico e realizar os testes de repelência para comprovação de sua eficácia.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho consistiu no desenvolvimento de um novo repelente para mosquitos hematófagos que fosse de fácil síntese e de baixa toxicidade, visando oferecer alternativa nacional para o controle das enfermidades causadas por esses vetores.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Efetuar reações de esterificação e de amidação a partir do ácido láctico e/ou do lactato de etila.

Identificar as substâncias sintetizadas.

Realizar teste de repelência com as novas substâncias com o mosquito *Aedes aegypti*.

Otimizar as etapas envolvidas na síntese do repelente sob os preceitos da química verde.

Submeter a substância com o melhor resultado de repelência à avaliação de estabilidade e toxicidade dérmica e ocular em laboratório especializado

Desenvolver formulação com a substância que apresentar melhor repelência visando obtenção de produto comercial.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os solventes utilizados foram tratados previamente de acordo com os procedimentos descritos em literatura.

Os solventes foram removidos em rotaevaporador Fisaton[®], operando à pressão reduzida.

As reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD). Nas placas cromatográficas 1,5 x 4 cm para CCD, utilizou-se sílica gel 60 Macherey-Nagel[®] e revelou-se sobre luz ultravioleta (254 nm), iodo molecular ou solução ácida de vanilina e aquecimento.

Nas separações feitas via cromatografia em coluna, empregou-se sílica 230-400 mesh, Merck[®] e os solventes hexano e lactato de etila.

As análises de atividade ótica foram efetuadas em um polarímetro Jasco[®] P-2000, utilizando diclorometano como solvente a uma temperatura de 20 °C com lâmpada de vapor de sódio.

As análises de espectrometria de massas foram realizadas em cromatógrafo em fase gasosa acoplado a espectrômetro de massas Shimadzu[®] GCMS – QP 2010 Plus equipado com coluna capilar Rtx-1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Injetor em modo splitless a 250 °C, interface e fonte de íons a 300 °C. A rampa de aquecimento utilizada nas análises foi de 60 °C a 250 °C, 8°/min.

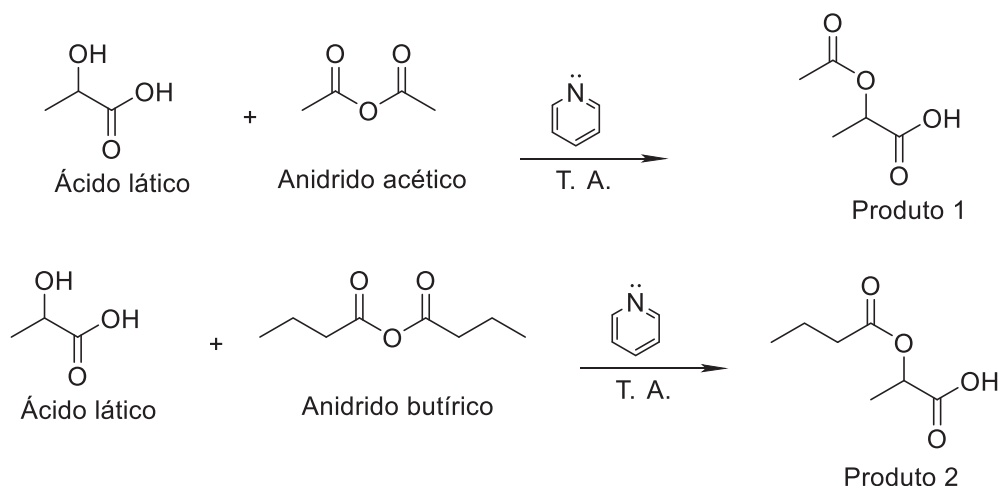
As análises de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de carbono foram efetuadas em um equipamento AVANCE 200 BRUKER utilizando-se clorofórmio deuterado como solvente e tetrametilsilano como referência.

3.1 PROCEDIMENTO GERAL PARA AS ACILAÇÕES DO ÁCIDO LÁTICO

Em um recipiente reacional, sob atmosfera inerte, adicionou-se o ácido lático em solução aquosa 85% (0,84 g, 8 mmol) e a piridina (5 mL). Após, adicionou-se o anidrido selecionado para cada reação (12 mmol), deixando por 24 horas em temperatura ambiente. Então, adicionou-se água gelada (20 mL) e acidificou-se a mistura reacional até pH 1-2 com ácido clorídrico 36,5%; separou-se as fases e, então, extraiu-se a solução aquosa com acetato de etila (3 x 20 mL). Juntou-se as fases orgânicas e lavou-se com solução saturada de bicarbonato de sódio (1 x 20 mL) e com solução saturada de cloreto de sódio (1 x 20 mL). Após ser secada com sulfato de sódio anidro, a fase orgânica foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida.

Os produtos obtidos foram purificados por cromatografia em coluna utilizando um gradiente de hexano e acetato de etila como eluente. O rendimento dos ésteres variou de 60 a 70%.

Esquema 1 - Procedimento geral para a reação de acilação do ácido láctico.



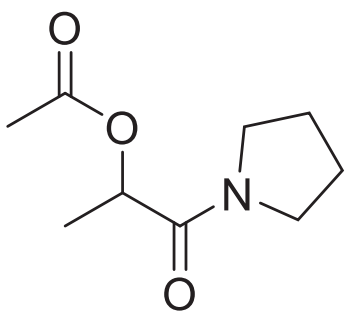
3.2 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DAS AMIDAS DERIVADAS DE AMINAS SECUNDÁRIAS

Em um balão, adicionou-se o produto obtido na reação do item 3.1 (5,1 mmol) e colocou-se sob atmosfera inerte. Diclorometano (15 mL) foi então adicionado como solvente. Em seguida, adicionou-se a trietilamina (1,52 g, 15 mmol) e por último, gota-a-gota, o cloreto de tionila (6 mmol). A reação foi então deixada em temperatura ambiente por 24 horas.

Após transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação e lavou-se com solução de ácido clorídrico 1 mol L⁻¹ (2 x 20 mL) e uma vez com solução de hidróxido de sódio 1 mol L⁻¹ (1 x 20 mL). Em seguida, a fase aquosa foi extraída com diclorometano (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram combinadas e secadas com sulfato de sódio anidro, seguido de filtração e evaporação do solvente à pressão reduzida.

Os produtos das reações foram purificados via cromatografia em coluna utilizando um gradiente de hexano e acetato de etila como eluente (de 5% a 50% de acetato de etila).

Acetato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (**3a**).



Rendimento: 75%.

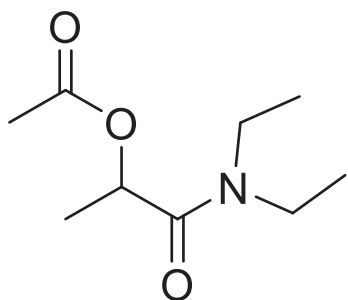
Dados Espectrais:

E.M. (m/z) (%): (M⁺ 186), 125 (23), 98 (100), 70 (23), 55 (72), 43 (47).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 5,19 (q, 1H), 3,72-3,32 (m, 4H), 2,13 (s, 3H), 2,05-1,83 (m, 4H), 1,44 (d, 3H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ 170,5, 168,7, 68,2, 45,9, 26,0, 23,8, 20,6, 16,3.

Acetato de 1-(dietilamino)-1-oxopropan-2-ila (**4a**)



Rendimento: 43%.

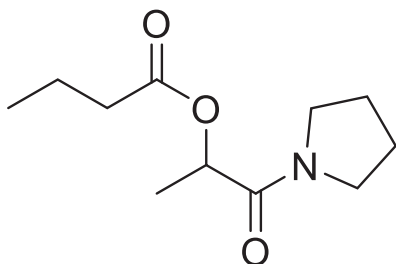
Dados Espectrais:

E.M. (m/z) (%): (M^{+1} 188 0,45%), 127 (25), 100 (100), 87(10), 72 (99), 43 (33)

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3): δ 5,31 (q, 1H), 3,57-3,21 (m, 4H), 2,12 (s, 3H), 1,44 (d, 3H), 1,23 (s, 3H), 1,13 (s, 3H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): δ 170,6, 169,7, 66,8, 41,6, 40,6, 20,7, 17,1, 14,1, 12,7.

Butirato de 1-oxo-1(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (**5a**).



Rendimento: 36%.

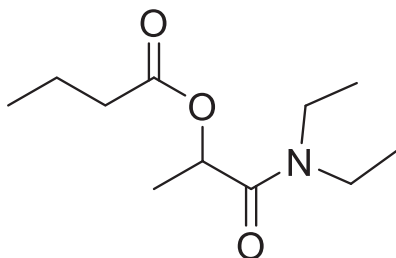
Dados Espectrais:

E.M. (m/z) (%): (M^{+1} 214 0,23%), 125 (30), 98 (100), 71 (43), 55 (32), 43 (17).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3): δ 5,20 (q, 1H), 3,72-3,32 (m, 4H), 2,38 (t, 2H), 2,05-1,82 (m, 4H), 1,76-1,57 (m, 2H), 1,43 (d, 3H), 0,95 (t, 3H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): δ 173,3, 168,8, 68,0, 45,9, 35,7, 26,1, 23,8, 18,2, 16,4, 13,5.

Butirato de 1-(dietilamin)o-1-oxopropan-2-ila (**6a**).



Rendimento: 44%.

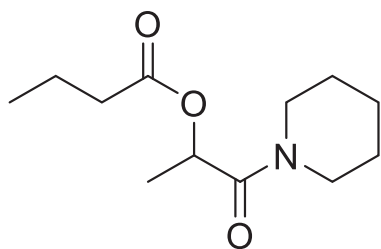
Dados Espectrais:

E.M. (m/z) (%): (M^{+1} 216 0,19%), 127 (19), 100 (100), 72 (57), 43 (14).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3): δ 5,33 (q, 1H), 3,54-3,21 (m, 4H), 2,50-2,25 (m, 2H), 1,77-1,54 (m, 3H), 1,44 (d, 3H), 1,27 (t, 3H), 1,12 (t, 3H), 0,96 (t, 3H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): δ 169,6, 168,9, 66,7, 41,6, 40,5, 35,8, 18,2, 17,2, 14,2, 13,6, 12,8.

Butirato de 1-oxo-1-(piperidin-1-il)propan-2-ila (**7a**).



Rendimento: 43%.

Dados Espectrais:

E.M. (m/z) (%): (m^{+1} 228 0,10%), 139 (19), 112 (100), 84 (15), 71 (31), 69 (44), 43 (21).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3): δ 5,43 (q, 1H), 3,71-3,76 (m, 4H), 2,37 (dt, 2H), 1,76-1,56 (m, 9H), 1,42 (d, 3H), 0,96 (t, 3H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): δ 173,1, 168,4, 66,5, 46,3, 43,2, 35,8, 26,2, 25,4, 24,4, 18,2, 16,8, 13,5.

3.3 PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DA AMIDA DERIVADA DE AMINAS PRIMÁRIAS

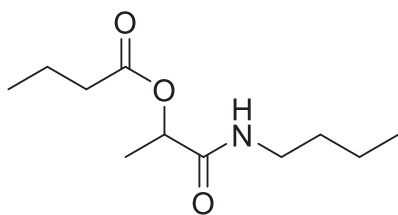
Em um balão de duas bocas, sob atmosfera inerte e com condensador de refluxo, adicionou-se o produto adquirido na reação do item 3.1 (0,78 g, 4,9 mmol). Diclorometano (15 mL) foi adicionado como solvente da reação. Em seguida, adicionou-se o cloreto de tionila (0,33 g, 2,8 mmol) e deixou-se em agitação por 45 minutos.

Após esse período, em outro balão, sob atmosfera inerte, colocou-se Zn^0 (0,3 g) e butilamina (0,53 g, 7,2 mmol). Essa mistura foi adicionada ao meio reacional e deixou-se em temperatura ambiente overnight.

Após finalizar a reação, filtrou-se o Zn^0 em excesso, transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação e lavou-se com solução de bicarbonato de sódio saturado (2x 20 mL). Em seguida, a fase aquosa foi extraída com diclorometano (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram combinadas e secadas com sulfato de sódio anidro, seguido de filtração e evaporação do solvente à pressão reduzida.

O produto da reação foi purificado via cromatografia em coluna utilizando um gradiente de hexano e acetato de etila como eluente (de 5% a 50% de acetato de etila).

Butirato de 1-(butilamino)-1-oxopropan-2-ila (**8b**).



Rendimento: 61%.

Dados Espectrais:

E.M. (m/z) (%): (M^{+1} 216 1,24%), 143 (20), 116 (34), 100 (51), 88 (49), 71 (100), 57 (46), 43 (43).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3): δ 6,20 (sl, 1H), 5,20 (q, 1H), 3,26 (q, 2H), 2,37 (t, 2H), 1,68 (q, 2H), 1,45 (d, 5H), 1,39-1,22 (m, 2H), 1,00-0,88 (m, 6H)

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): δ 172,0, 170,2, 70,3, 38,8, 36,1, 31,5, 19,9, 18,3, 17,8, 13,6, 13,4.

3.4 SÍNTESE DOS ÉSTERES AMIDAS A PARTIR DO (L)-LACTATO DE ETILA

3.4.1 Reação de amidação

Em um balão, adicionou-se a pirrolidina (1,81 g, 30 mmol) e, em banho de gelo, adicionou-se o (L)-lactato de etila Aldrich 98% (2,416 g, 20 mmol). Terminada a adição dos reagentes, o balão foi aquecido até atingir a temperatura de 30°C. A reação foi deixada por 72 h.

A amina e o álcool residuais foram retirados por destilação sob pressão reduzida.

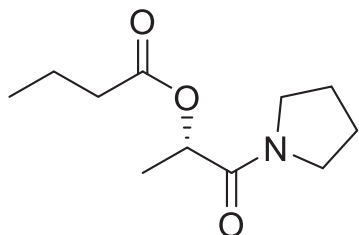
O produto da reação foi purificado via cromatografia em coluna utilizando um gradiente de hexano e acetato de etila como eluente (de 10% a 50% de acetato de etila). O rendimento do produto variou de 91 a 96%.

3.4.2 Procedimento geral para as acilações da amida derivada do (L)-lactato de etila

Em um recipiente reacional, sob atmosfera inerte, adicionou-se a amida obtida na etapa anterior (2,99 g, 20,9 mmol) e a piridina (1,1 mL). Após, adicionou-se o anidrido selecionado para cada reação (31,3 mmol), deixando por 24 horas em temperatura ambiente. Após o término da reação, adicionou-se água gelada (20 mL) e acidificou-se a mistura reacional reação até pH 1-2 com ácido clorídrico 36,5%; separou-se as fases e então extraiu-se a solução aquosa três vezes com acetato de etila (3 x 20 mL). Juntou-se as fases orgânicas e lavou-se com solução saturada de bicarbonato de sódio (1 x 20 mL) e com solução saturada de cloreto de sódio (1 x 20 mL). Após ser secada com sulfato de sódio anidro, a fase orgânica foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida.

O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna utilizando um gradiente de hexano e acetato de etila como eluente.

Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (**9c**).



Rendimento: 74%.

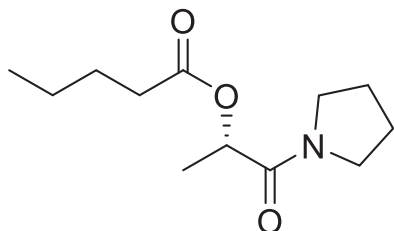
Dados Espectrais:

E.M. (m/z) (%): (M^{+1} 214 0,23%), 125 (30), 98 (100), 71 (43), 55 (32), 43 (17).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3): δ 5,20 (q, 1H), 3,72-3,32 (m, 4H), 2,38 (t, 2H), 2,05-1,82 (m, 4H), 1,67 (q, 2H), 1,43 (d, 3H), 0,95 (t, 3H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): δ 173,3, 168,8, 68,0, 45,9, 35,7, 26,1, 23,8, 18,2, 16,4, 13,5.

Pentanoato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (**10c**).



Rendimento: 70%.

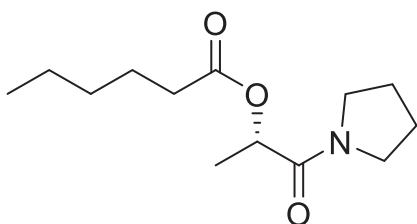
Dados Espectrais:

E.M. (m/z) (%): (M^{+1} 228 0,19%), 125 (21), 98 (100), 85 (25), 70 (16), 57 (23), 55 (32).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3): δ 5,19 (q, 1H), 3,71-3,31 (m, 4H), 2,38 (dt, 2H), 2,06-1,81 (m, 4H), 1,69-1,54 (m, 2H), 1,42 (d, 3H), 1,37-1,22 (m, 2H), 0,90 (t, 3H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): δ 173,5, 168,8, 68,0, 45,9, 33,5, 26,7, 26,1, 23,8, 22,1, 16,3, 13,5.

Hexanoato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (**11c**).



Rendimento: 38%.

Dados Espectrais:

E.M. (m/z) (%): (M^{+1} 242 0,23%), 125 (25), 99 (30), 98 (100), 70 (20), 55 (34), 43 (17).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3): δ 5,19 (q, 1H), 3,72-3,32 (m, 4H), 2,42-2,34 (dt, 2H), 2,07-1,82 (m, 5H), 1,43 (d, 3H), 1,37-1,22 (m, 5H), 0,89 (t, 3H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): δ 173,5, 168,88, 68,0, 46,0, 33,8, 31,2, 26,1, 24,3, 23,8, 22,2, 16,4, 13,8.

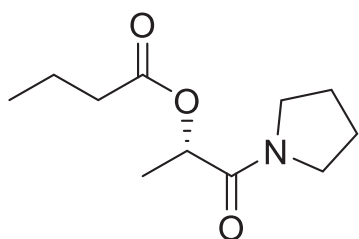
3.4.3 Procedimento de acilação da amida derivada do (L)-lactato de etila sob irradiação micro-ondas

Em um tubo de ensaio, adicionou-se a amida obtida na etapa 3.4.1 (0,143 g, 1 mmol), o anidrido butírico (0,20 mL, 1,2 mmol) e o catalisador heterogêneo cedido pelo Prof. Dr. Fernando Wypych (0,007 g).

Essa mistura reacional foi então levada à irradiação por micro-ondas por um período de três horas.

Após o fim da reação, essa mistura reacional foi retirada do micro-ondas e filtrada para a retirada do catalisador heterogêneo. Então extraiu-se o produto com diclorometano (3x de 20 mL). Em seguida, lavou-se com solução saturada de bicarbonato de sódio (2x de 20 mL). A fase orgânica então foi secada com Na₂SO₄, seguido de filtração e evaporação do solvente à pressão reduzida.

Butirato de (S)-1-oxo-1(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (**12d**).



Rendimento: 68%.

Dados Espectrais:

E.M. (m/z) (%): (M⁺ 214 0,23%), 125 (30), 98 (100), 71 (43), 55 (32), 43 (17).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 5,20 (q, 1H), 3,72-3,32 (m, 4H), 2,38 (t, 2H), 2,05-1,82 (m, 4H), 1,67 (q, 2H), 1,43 (d, 3H), 0,95 (t, 3H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ 173,3, 168,8, 68,0, 45,9, 35,7, 26,1, 23,8, 18,2, 16,4, 13,5.

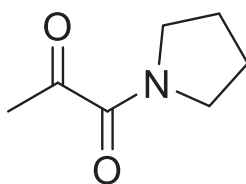
3.5 OXIDAÇÃO DE SWERN

Em um balão, sob atmosfera inerte, adicionou-se 2 mL de diclorometano anidro e cloreto de oxalila (1,20 mL, 13,7 mmol). Resfriou-se o sistema até -60 °C e, em seguida, adicionou-se dimetilsulfóxido (2,08 mL, 28,56 mmol), deixando agitar por cinco minutos.

Após esse período, adicionou-se a amida (1,708 g, 12 mmol) dissolvida em 2 mL de diclorometano e agitou-se por vinte minutos, mantendo a temperatura de -60 °C. Ao término desse tempo, adicionou-se trietilamina (8,15 mL, 17,73 mmol) e agitou-se por cinco minutos. Por fim, deixou-se atingir a temperatura ambiente e adicionou-se 10 mL de água.

A mistura reacional foi extraída com diclorometano (3x de 30 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio (2x de 30 mL), secada com Na₂SO₄, seguido de filtração e evaporação do solvente à pressão reduzida.

1-(pirrolidin-1-il)propan-1,2-diona

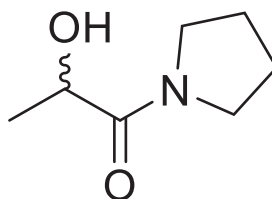


3.6 REDUÇÃO COM BOROHIDRETO DE SÓDIO

Em um balão, sob temperatura ambiente, adicionou-se 10 mL de metanol, a cetona obtida na etapa 3.5 (1,005 g, 6,98 mmol) e borohidreto de sódio (0,265 g, 7 mmol) e deixou-se agitando por 24 h.

Após o término da reação, adicionou-se 1 mL de água e evaporou-se o metanol sob pressão reduzida. Então neutralizou-se a mistura reacional até pH 6 com solução de ácido clorídrico 1 mol L⁻¹ e extraiu-se com diclorometano. A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄, seguido de filtração e evaporação do solvente à pressão reduzida.

2-hidroxi-1-(pirrolidin-1-il)propan-1-ona



3.7 TESTE DE REPELÊNCIA

Os testes de repelência, realizados conforme procedimento padronizado pela World Health Organization (WHO)^[64], foram realizados no Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária, situado no Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, a uma temperatura de 20 °C ± 2 °C e umidade relativa de 50 a 60%. Os dados de temperatura e umidade relativa foram monitorados e registrados utilizando um termo higrômetro digital durante os experimentos.

Para a realização dos testes, utilizaram-se gaiolas de madeira com telas nas laterais e vidro na face superior medindo, 30 cm x 30 cm x 30 cm, com 20 fêmeas do mosquito *A. aegypti*, todas copuladas sem ter passado pelo repasto sanguíneo. Os testes foram realizados no período diurno, respeitando a preferência para a atividade de hematofagia do mosquito.

Para os testes, uma das mãos do analisador foi higienizada com sabão neutro e em seguida a face superior, inferior, lateral e a região entre os dedos foram tratadas com soluções dos repelentes em etanol. Os compostos tiveram suas atividades de repelência

avaliadas. Para os testes foram preparadas soluções dos possíveis repelentes, diluídos em etanol, com concentração de $85 \mu\text{L mL}^{-1}$, a um volume total de 1,0 mL.

A mão fechada foi então introduzida na gaiola para realização dos testes conforme a Figura 10, com o analisador sentado, ou seja, em posição de descanso, não tendo realizado esforço físico anteriormente à realização dos testes.

Ocorrendo a primeira picada, o experimento era interrompido e o tempo registrado com o auxílio de um cronômetro digital.

Figura 10 - Posicionamento da mão na gaiola durante os testes a serem realizados.

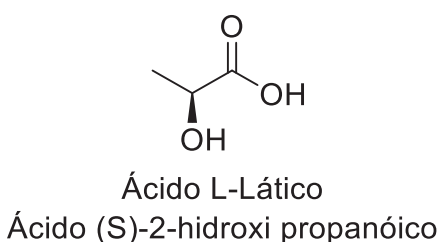


4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Inicialmente, determinou-se a pureza ótica do ácido láctico (85%, Nuclear®) por meio de análises realizadas no polarímetro. Na literatura é encontrado o valor de $[\alpha]_D^{20} = -13,5^\circ$ ^[60], para análise realizada com a solução de ácido L-(-)-lático 2,5 mol L⁻¹ em 1,5 mol L⁻¹ de NaOH, evidenciando que o sal é levorotatório.

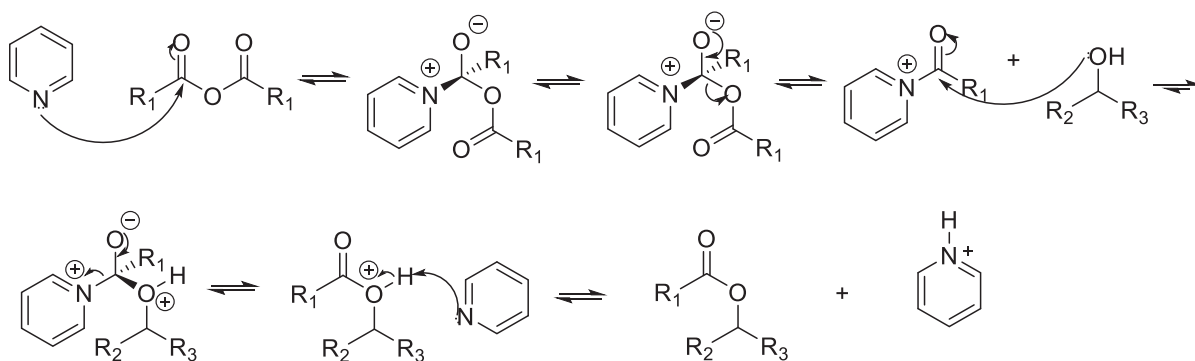
As mesmas condições foram reproduzidas com o reagente disponível no laboratório e o valor encontrado foi de $[\alpha]_D^{20} = -11,92^\circ$, sendo possível calcular um excesso enantiomérico de 88,3%.

O fato da substância ser levorotatória comprova que se trata do estereoisômero de configuração L, enantiômero natural e, conseqüentemente, de valor mais acessível.



As primeiras transformações efetuadas com o ácido láctico envolveram a acilação através da reação deste com dois anidridos diferentes, na presença de piridina^[61] cujo mecanismo geral está demonstrado na Figura 11.

Figura 11 - Mecanismo de reação para a acilação de álcoois secundários reagindo com anidridos.

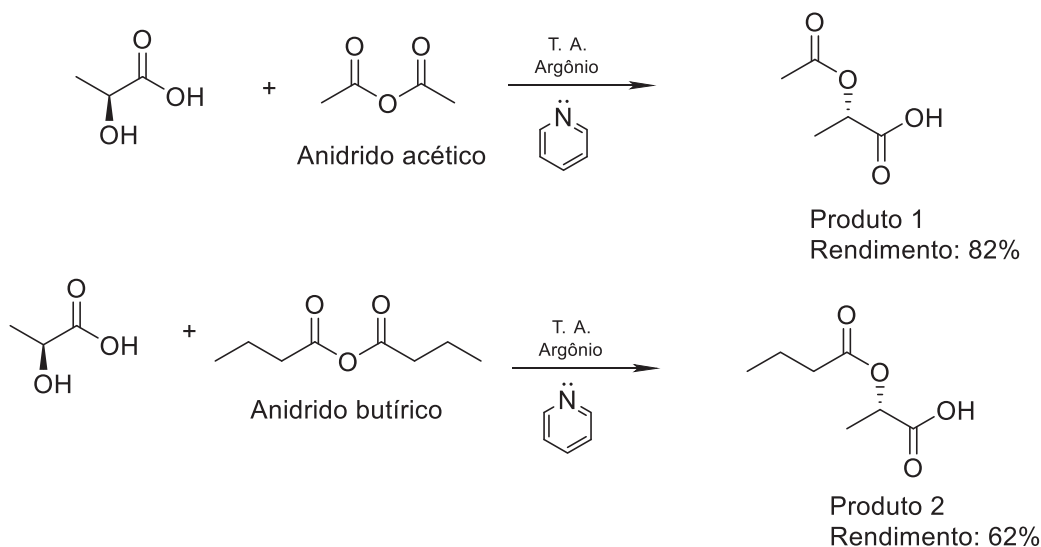


É mais provável que o primeiro passo desse mecanismo envolva o ataque da piridina à carboxila dos anidridos pois, além dela ser mais nucleofílica que álcoois, ela está em excesso no meio reacional. O intermediário gerado sofre, então, ataque da hidroxila do álcool, reestabelecendo a piridina no meio. Dessa forma, além de atuar como base, a piridina gera um intermediário que é mais reativo que o próprio anidrido de partida, facilitando a reação.

Os anidridos utilizados inicialmente para reação foram o acético e o butírico e os rendimentos foram de 82% e 62% respectivamente, conforme pode ser verificado no

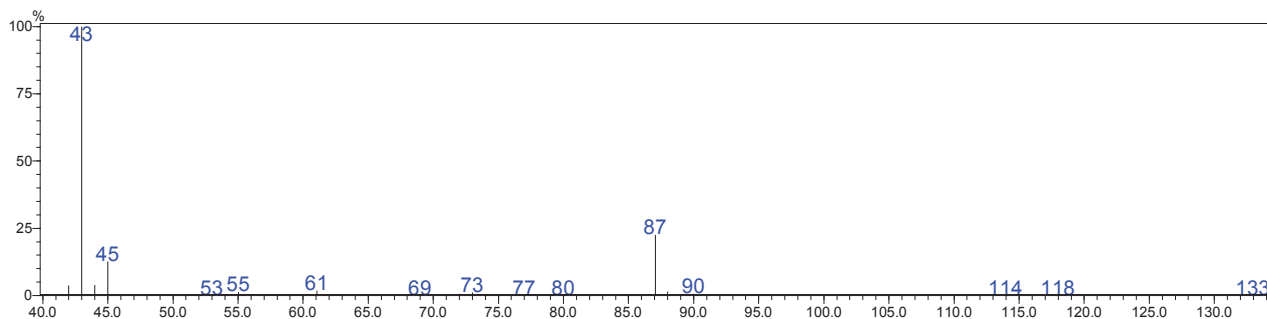
Esquema 2. Esses anidridos foram selecionados baseado em resultados prévios do nosso grupo em relação ao papel do grupo acilante no efeito de repelência.

Esquema 2 - Reação de acilação do ácido láctico.



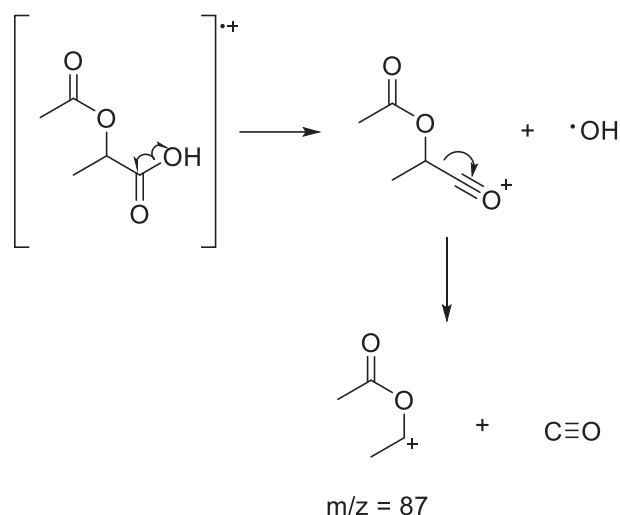
O produto da reação com o anidrido acético foi caracterizado por espectrometria de massas e seu espectro pode ser observado na Figura 12.

Figura 12 - Espectro de fragmentação de massas do produto de acilação (Produto 1).



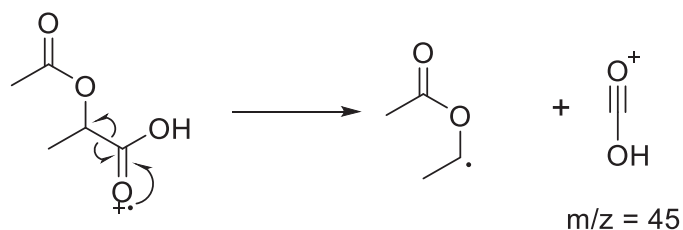
O pico do íon molecular acrescido de uma unidade é pouco detectável no espectro (M^{+1} m/z = 133). Um dos picos de maior intensidade observados no espectro, com m/z = 87, pode ser explicado pela fragmentação mostrada na Figura 13.

Figura 13 – Proposta de fragmentação para formação do pico com $m/z = 87$



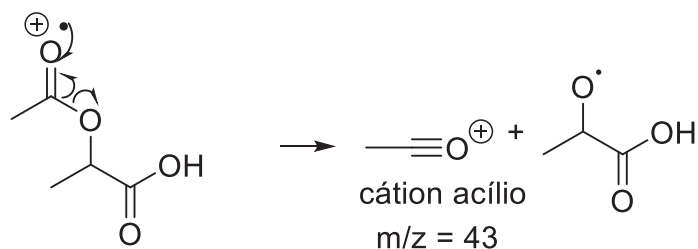
A fragmentação que gera o pico com $m/z = 45$ é uma fragmentação α que ocorre comumente em ácidos carboxílicos e está mostrada na Figura 14.

Figura 14 – Proposta de fragmentação α recorrente em ácidos carboxílicos.



O pico base dessa análise ($m/z = 43$) deriva da formação de um cátion acílio comum em fragmentações de ésteres (Figura 15).

Figura 15 – Proposta de fragmentação para formação do íon acílio.



O composto foi analisado por RMN de ^1H (Figura 16) e por RMN de ^{13}C (Figura 18). No espectro de RMN de ^1H , pode-se destacar a presença de um simpleto largo em δ 10,38 ppm com integral para um hidrogênio, referente ao H do ácido carboxílico, um quarteto em δ 5,12 ppm, com constante de acoplamento (J) de 7,1 Hz, referente ao H do centro estereogênico, com integral para um hidrogênio. Observa-se também um simpleto em δ 2,14 ppm com a integral para três hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios

vicinais ao grupo éster (carbono 1) e um duplete em δ 1,54 ppm ($J = 7,1$ Hz), referente aos hidrogênios ligados ao carbono 3, todos ilustrados na Figura 17.

No espectro de RMN de ^{13}C , pode-se destacar, primeiramente, os sinais em δ 176,4 e 170,5 ppm, atribuídos aos carbonos 2 e 5 das carboxilas. Também se destaca o sinal em δ 68,2 ppm atribuído ao carbono do estereocentro (carbono 4). Além disso, observa-se os sinais em δ 20,5 e 16,7 ppm, atribuídos aos carbonos metílicos 1 e 3, respectivamente.

Figura 16 - Espectro de RMN (200 Hz) de ^1H do produto 1, utilizando CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

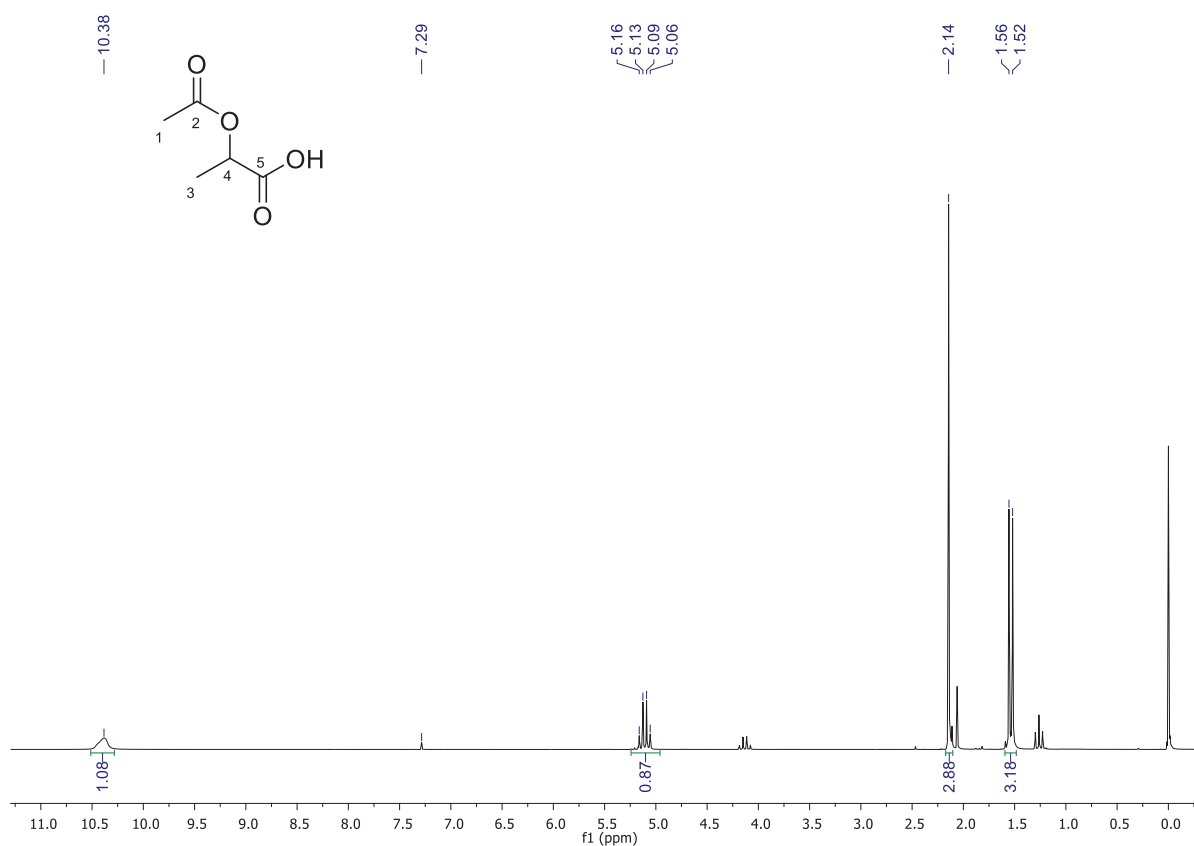


Figura 17 - Região expandida do espectro de ^1H so produto 1, entre a região de 1,0 ppm até 5,5 ppm.

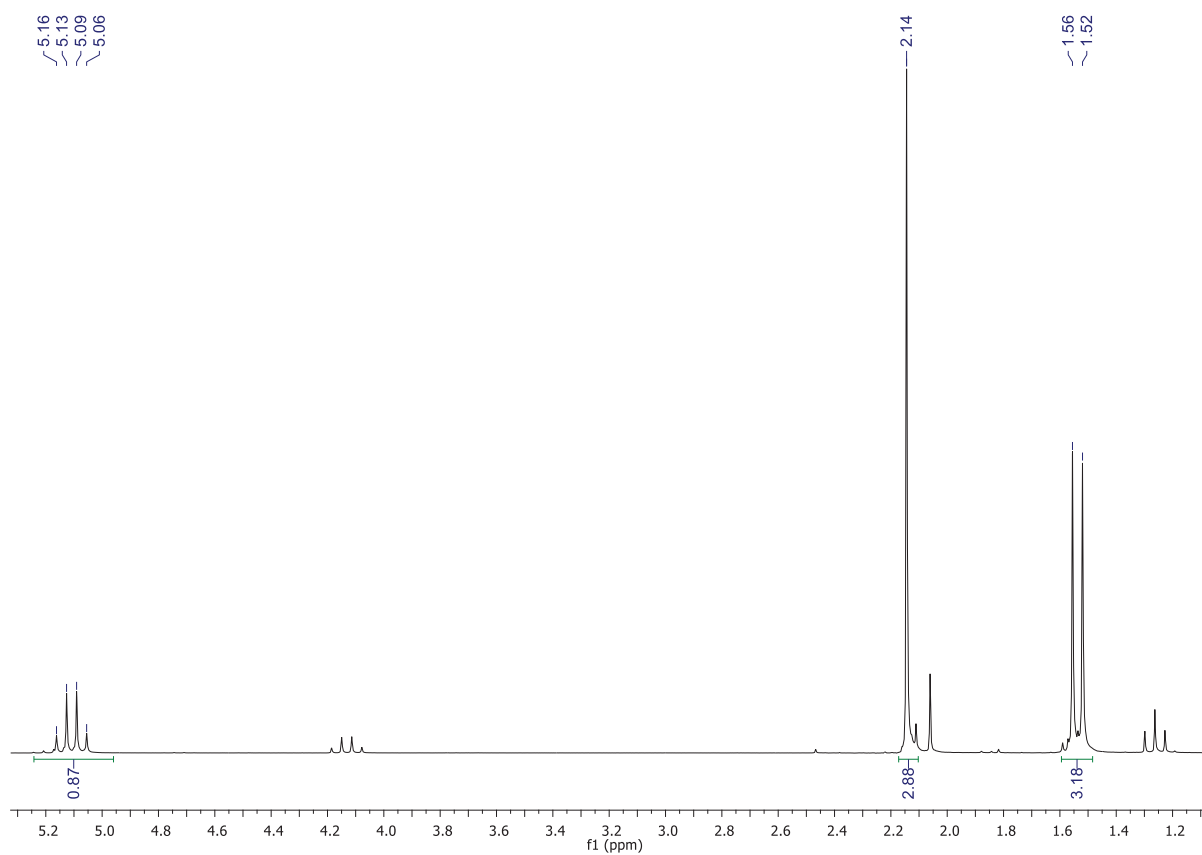
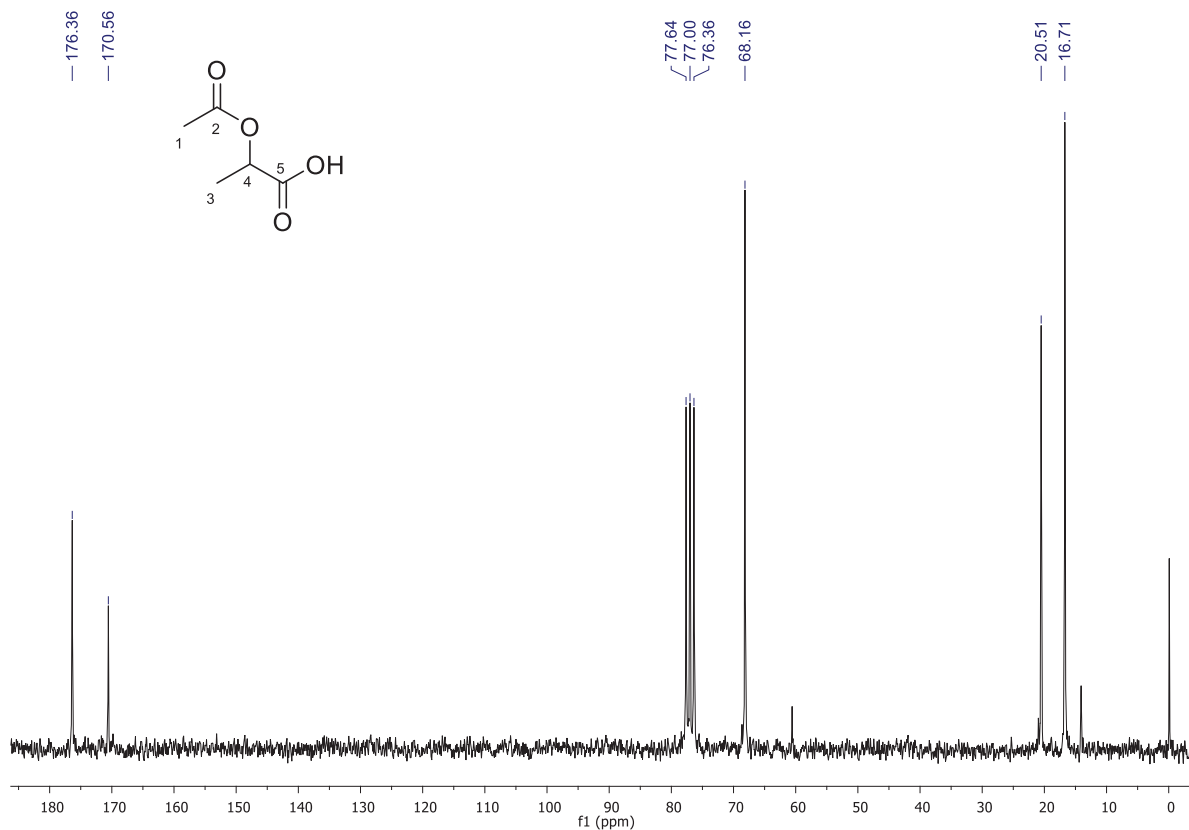


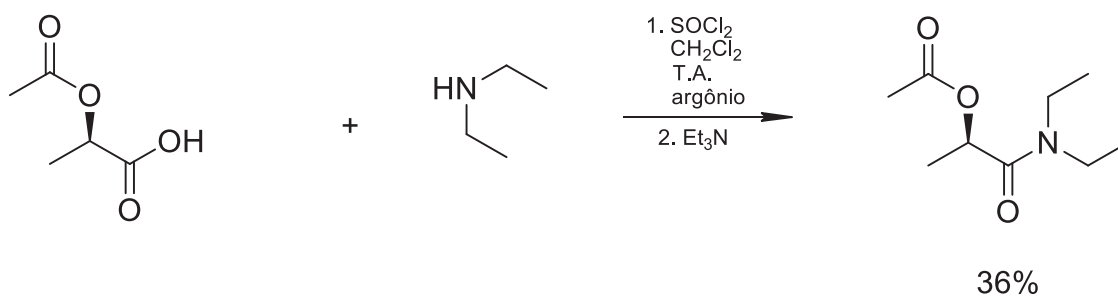
Figura 18 - Espectro de RMN (50 Hz) de ^{13}C do produto 1, utilizando CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.



Além do anidrido acético, também foi sintetizado o derivado do ácido láctico através da reação deste com o anidrido bórico e o rendimento para a reação foi de 62 %

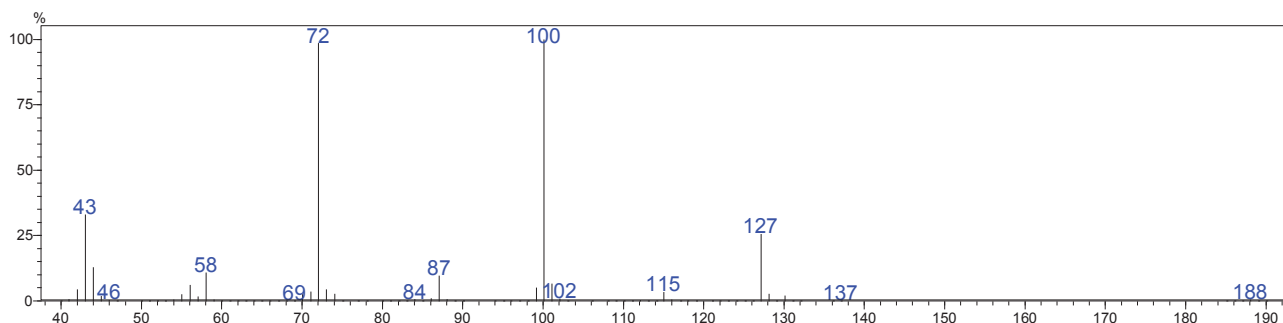
De posse dessas substâncias aciladas, trabalhou-se na preparação de quatro amidas diferentes, derivadas da N,N-dietilamina, butilamina, pirrolidina e piperidina (Tabela 2, p. 36). Inicialmente as amidas foram preparadas através da conversão do ácido carboxílico presente no material de partida em haleto de acila, com posterior reação com as aminas^[62], conforme representado no Esquema 2 para a reação com a N,N-dietilamina.

Esquema 3 - Reação das substâncias aciladas com aminas.



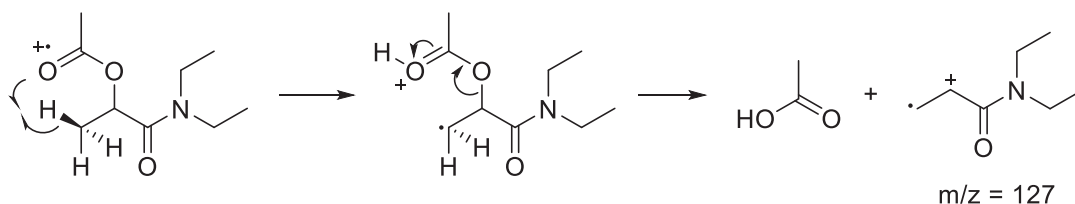
A amida derivada da N,N-dietilamina foi sintetizada devido ao fato de o DEET conter essa amida em sua estrutura. Esse produto também foi caracterizado por espectrometria de massas e seu espectro pode ser visualizado na Figura 19.

Figura 19 - Espectro de fragmentação de massas do produto 4a.



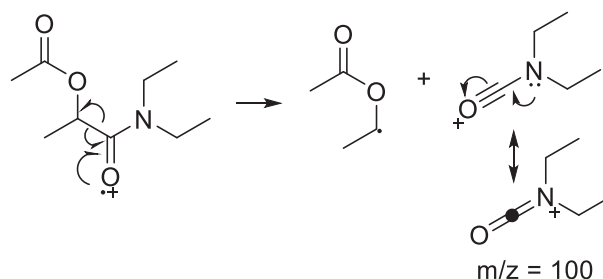
O pico do íon molecular acrescido de uma unidade pode ser detectado no espectro (M^{+1} $m/z = 188$). Um dos fragmentos de maior intensidade observados nesse espectro, com $m/z = 127$, pode corresponder à transferência de um hidrogênio seguido de segmentação indutiva^[63] que ocorre na função éster da molécula, ilustrado na Figura 20.

Figura 20 – Proposta de fragmentação mostrando a formação do pico com $m/z = 127$.



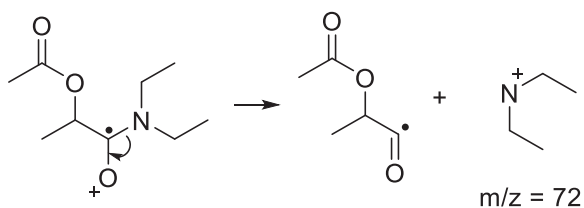
O pico base dessa análise ($m/z = 100$) deriva da formação de um dos possíveis cátions acílio que pode ser adicionalmente estabilizado pela conjugação com o par de elétrons do nitrogênio (Figura 21).

Figura 21 – Proposta de fragmentação mostrando a formação do pico base.



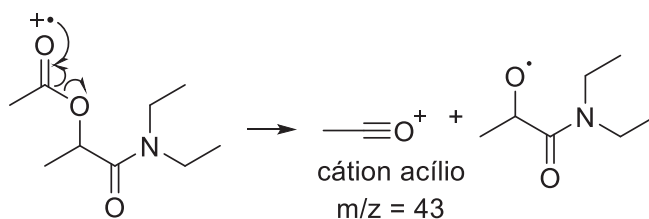
Outro pico de maior intensidade observados no espectro, com $m/z = 72$, pode ser explicado pela fragmentação mostrada na Figura 22.

Figura 22 – Proposta de fragmentação com perda da porção amina.



Já o pico com $m/z = 43$ é gerado a partir da formação do outro cátion acílio (Figura 23).

Figura 23 – Formação do cátion acílio derivado do radical acetila.



O composto também foi analisado por RMN de ^1H (Figura 24) e por RMN de ^{13}C (Figura 27). No espectro de RMN de ^1H , pode-se destacar a presença de um quarteto em δ 5,31 ppm, com constante de acoplamento (J) de 6,7 Hz, referente ao hidrogênio do centro estereogênico com integral para um hidrogênio. Um multiplete entre δ 3,21 e 3,57 ppm, referente aos hidrogênios ligados aos carbonos 6 e 8, com a integral para quatro hidrogênios (ambos ilustrados na Figura 25), um simpleto em δ 2,12 ppm com a integral para três hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios vicinais ao grupo éster (carbono 1). Um duplete em δ 1,44 ppm ($J = 6,7$ Hz), referente aos hidrogênios do carbono 3 e dois tripletos em δ 1,23 e 1,13 ppm, ambos com $J = 7,1$ Hz, correspondendo aos hidrogênios das metilas 7 e 9 (todos ilustrados na Figura 26).

Figura 24 - Espectro de RMN (200 Hz) de ^1H do produto 4a, utilizando CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

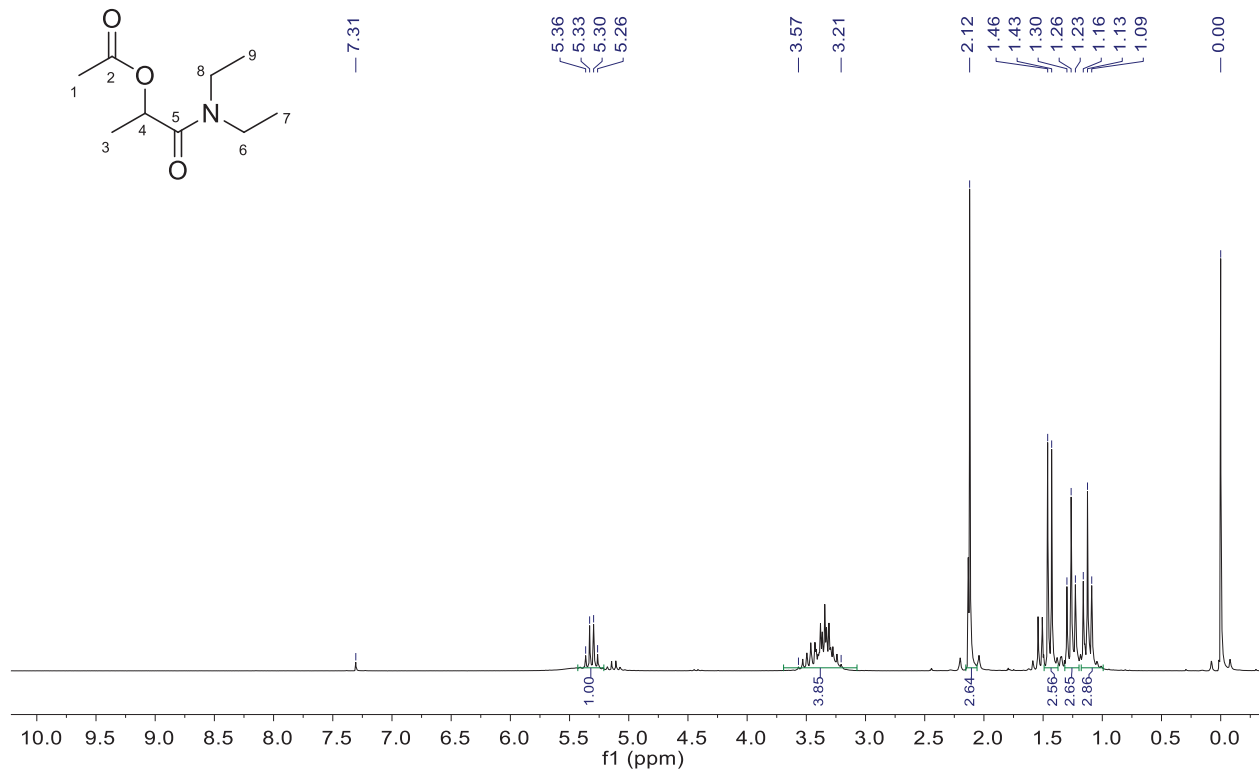


Figura 25 - Região expandida do espectro de RMN de ^1H do produto 4a na região de 3 ppm a 5,5 ppm.

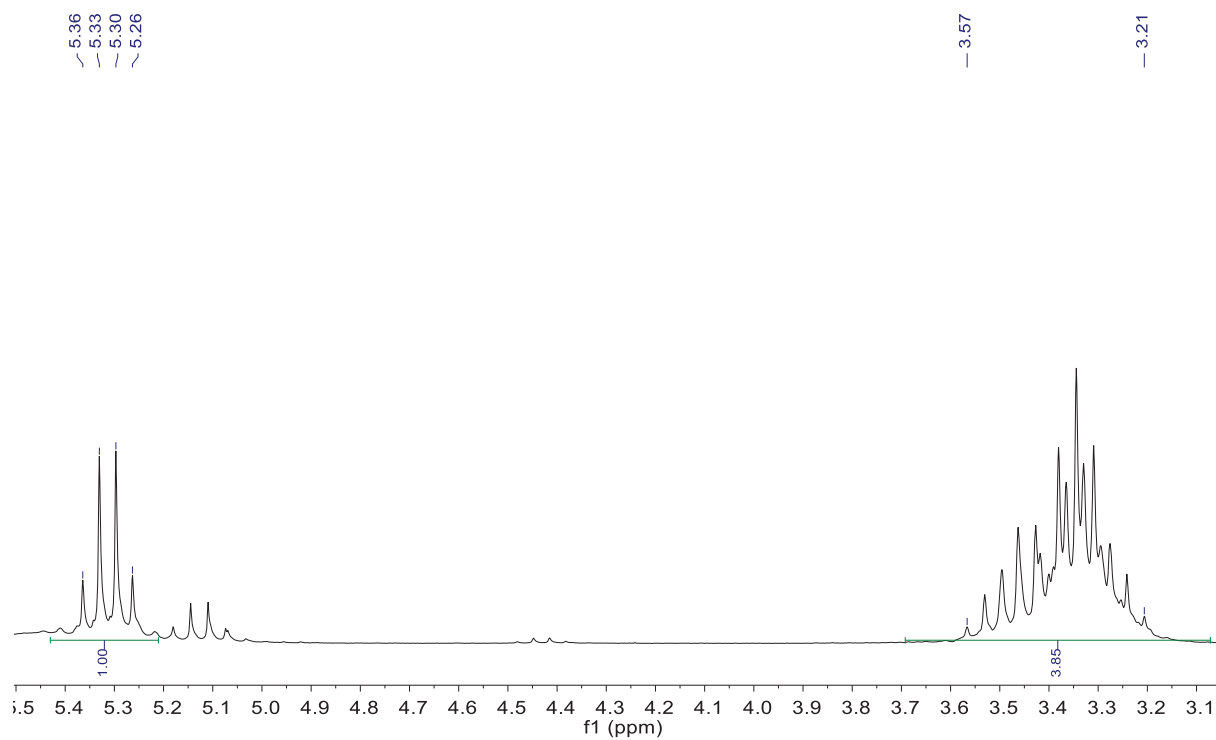
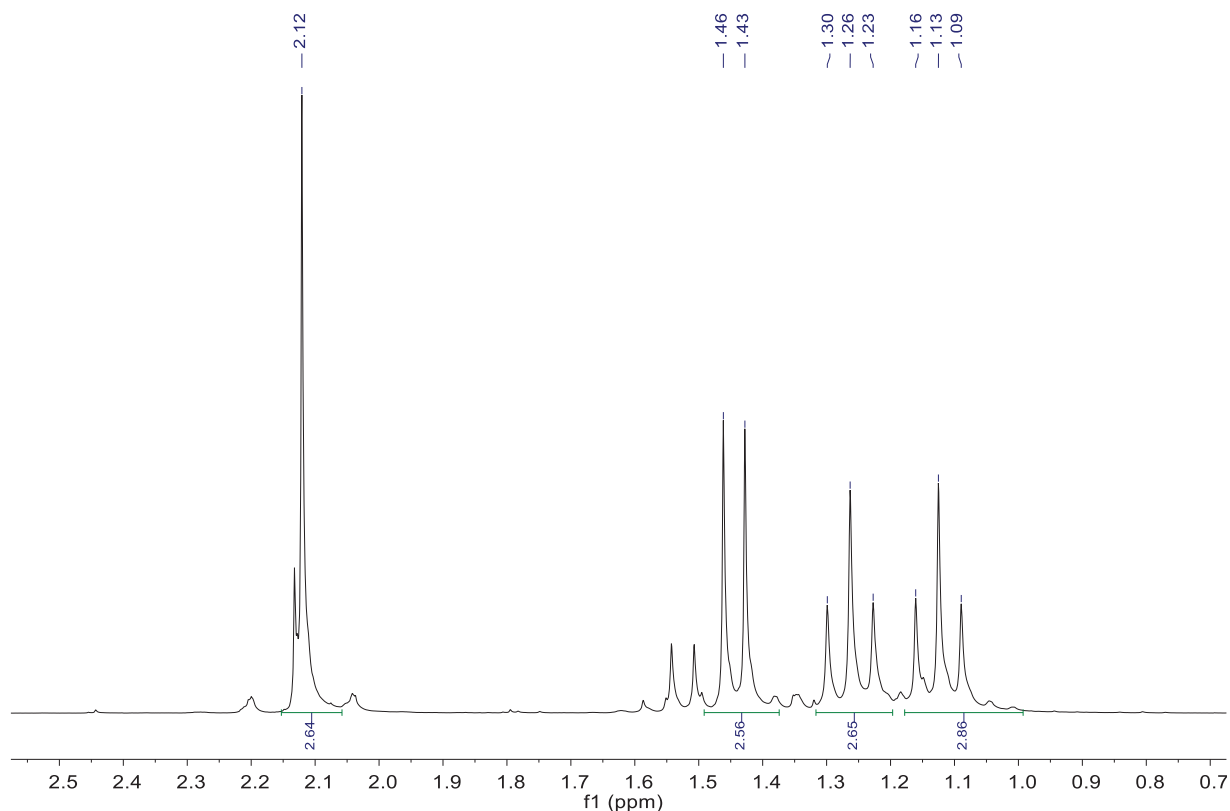
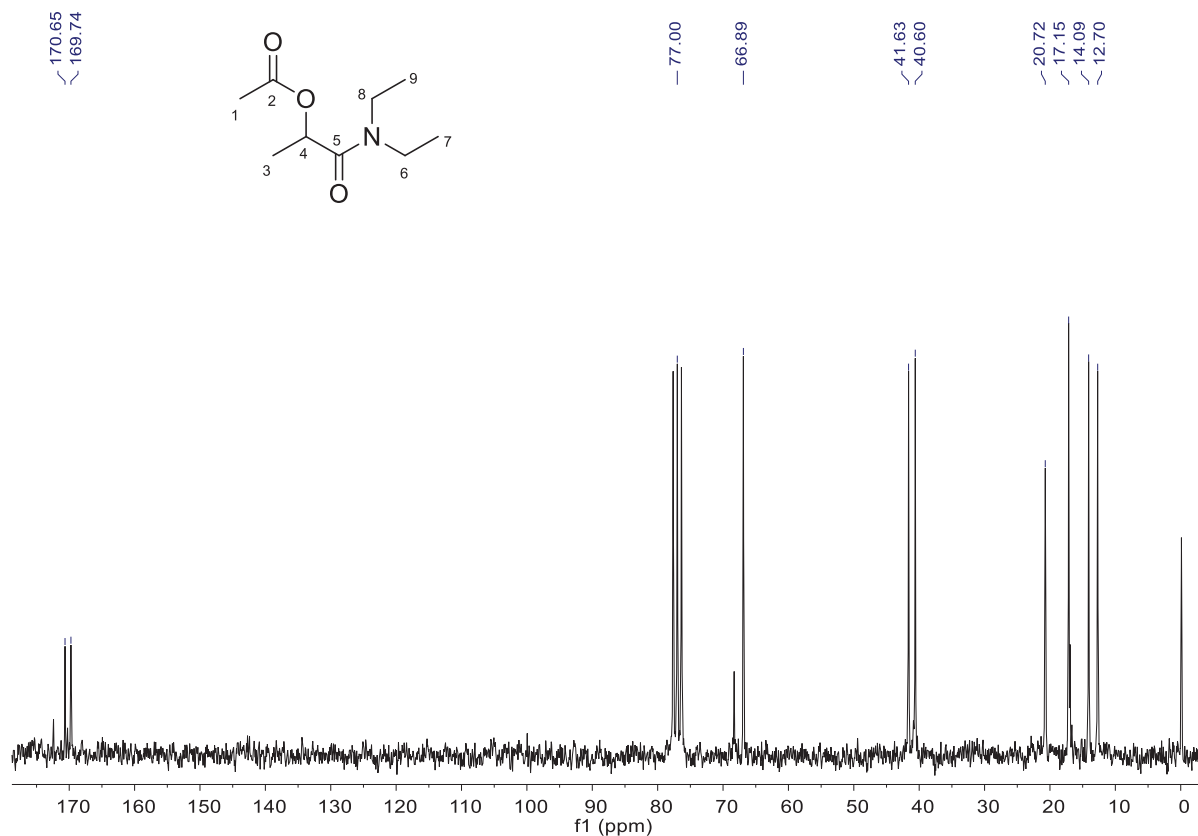


Figura 26 - Região expandida do espectro de RMN de ^1H , na região entre 0,7 ppm a 2,5 ppm.



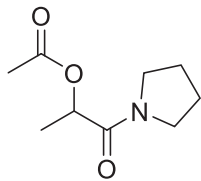
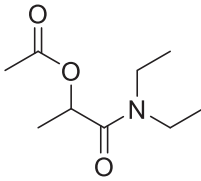
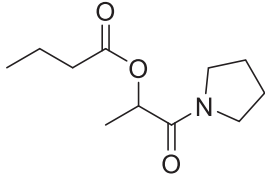
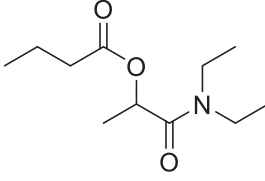
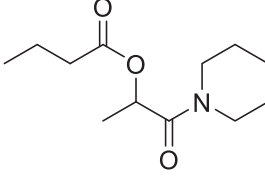
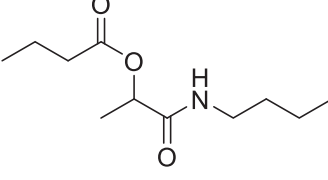
No espectro de RMN de ^{13}C (

Figura 27), pode-se destacar, primeiramente, os sinais em δ 170,6 e 169,7 ppm, atribuídos aos carbonos 2 e 5 das carboxilas. Também destaca-se o sinal em δ 66,8 ppm atribuído ao carbono do estereocentro. Além disso, observa-se os sinais em δ 41,6 e 40,6 ppm, sendo atribuídos aos carbonos 6 e 8 ligados ao nitrogênio e os sinais em δ 20,7, 17,15, 14,09 e 12,7 ppm, atribuídos às metilas 1, 3, 7 e 9, respectivamente.

Figura 27 - Espectro de RMN (50 Hz) de ^{13}C do produto 4a.

Na Tabela 2 encontram-se as amidas preparadas com seus respectivos rendimentos para a reação de amidação, bem como os resultados de repelência que foram realizados conforme procedimento padronizado pela WHO^[64]. Esses testes realizados evidenciaram que o grupamento acila com quatro carbonos era fundamental para a atividade de repelência. A partir de então esse grupamento foi mantido e, até o momento, duas outras aminas foram usadas para se avaliar o efeito desses grupamentos na repelência.

Tabela 2 - Rendimento e tempo de repelência de cada produto obtido.

Código	Estrutura	Rendimento (%)	Tempo de repelência (min)
3a		75	250
4a		36	300
5a		43	>600
6a		44	120
7a		43	> 600
8b		61	150

Para os compostos 5a e 7a obteve-se um excelente resultado, com mais de 10 h de repelência, comparado ao apresentado pelo melhor repelente disponível no mercado, a icaridina, que apresenta 10 h de ação.

Tendo em vista que uma das aminas usadas para preparar um dos repelentes de maior eficiência tem sua venda controlada a nível mundial, optou-se por continuar os testes com a amina mais acessível e de menor preço, sendo nesse caso a pirrolidina.

Na tentativa de otimizar a síntese dos ésteres/amidas de interesse, vislumbrou-se a possibilidade de se utilizar como material de partida o lactato de etila, uma vez que, a primeira etapa da síntese poderia ser facilmente realizada através da substituição de acila,

trocando o grupamento derivado de um álcool pelo de uma amina, via de regra mais nucleofílica que álcoois. Vale a pena ressaltar que, para essa transformação, não haveria a necessidade de converter a função ácido carboxílico em haleto de acila, que necessita de cloreto de tionila, reagente mais difícil de ser manipulado e que gera subprodutos mais agressivos ao meio ambiente. Essa reação poderia, inclusive, ser testada sem solvente.

4.1 OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DAS SUBSTÂNCIAS DE INTERESSE A PARTIR DO (L)-LACTATO DE ETILA

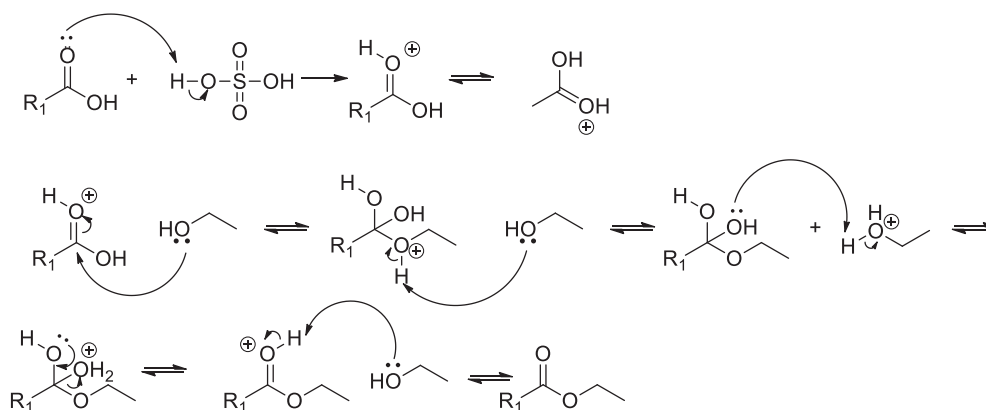
A partir de então, além de ter sido pensado na síntese de outras substâncias para que se possa ter uma variedade maior de compostos, o que permitiria entender melhor o papel dos substituintes no efeito do repelente, também se trabalhou na melhoria do processo de síntese da substância que já apresentou excelente efeito repelente, tendo em vista seu potencial de se transformar em produto comercial.

Uma rota alternativa de síntese de ésteres amidas derivadas do ácido láctico poderiam ser iniciadas com o lactato de etila, substância acessível e de baixo custo. A vantagem de se empregar o lactato de etila está no fato de a amidação poder ser realizada através da reação direta deste com aminas, na ausência de solventes.

Para preparar o lactato de etila, empregou-se a esterificação de Fischer, que se trata da reação de ácidos carboxílicos com álcoois^[65]. A vantagem dessa reação é a possibilidade de ser efetuada tendo o álcool como reagente e solvente, sem a necessidade de utilização de outro solvente. Uma desvantagem é a reversibilidade da reação, porém, esse problema pode ser resolvido usando um grande excesso de álcool para deslocar o equilíbrio em direção à formação dos produtos.

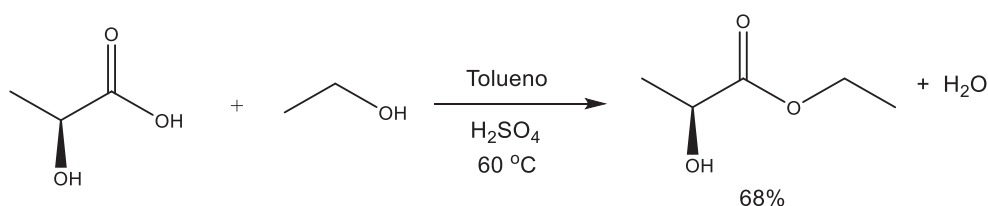
O mecanismo dessa reação (Figura 28), se inicia com a protonação do oxigênio da carboxila, tornando-a mais reativa que a carboxila não protonada.

Figura 28 - Mecanismo da esterificação de Fischer.



A reação empregada para a preparação do lactato de etila está ilustrada no Esquema 4 abaixo.

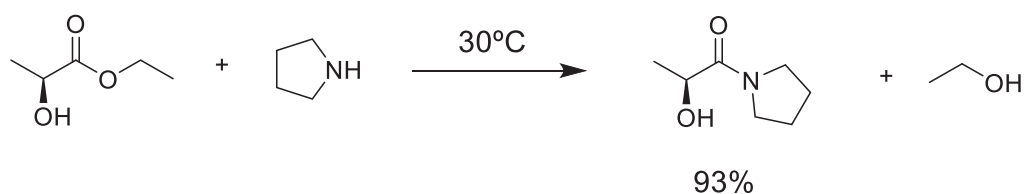
Esquema 4 - Reação da síntese do lactato de etila.



Essa reação levou ao produto desejado em 68%, enquanto aguardávamos a chegada do lactato comercial, que foi adquirido da Aldrich e que apresenta uma pureza ótica de 99%.

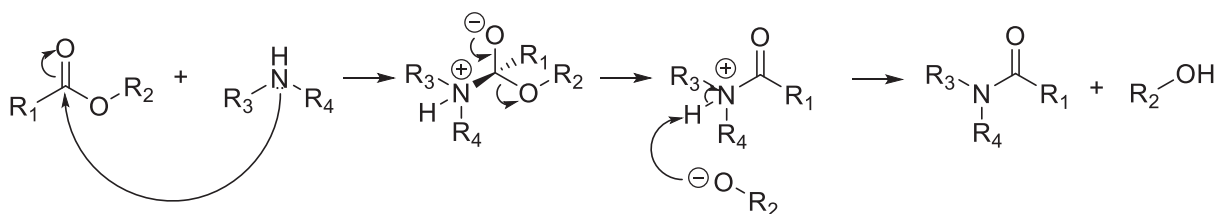
De posse do lactato de etila sintetizado, esse foi reagido com a pirrolidina (Esquema 5) a fim de verificar a possibilidade de se obter a amida sem a utilização de solvente. A amida foi obtida em 93% de rendimento após purificação por coluna.

Esquema 5 - Reação utilizada para o preparo das amidas.



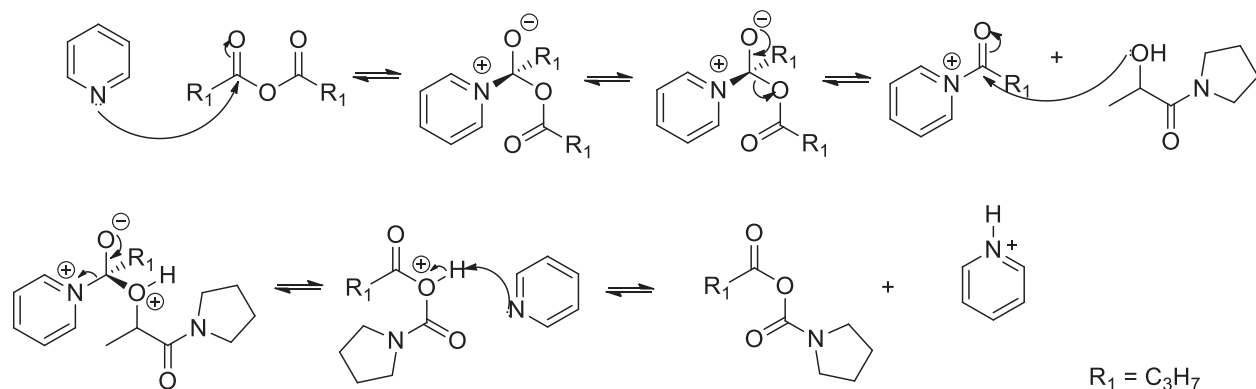
O mecanismo geral desse tipo de reação é ilustrado na Figura 29.

Figura 29 - Mecanismo de reação de formação de amida a partir de éster.



Essa amida foi então acilada conforme descrito anteriormente, com piridina e anidrido butírico (Figura 30). Essas duas etapas acima descritas levaram à obtenção do produto final 9c com 74% de rendimento, resultado superior aos 36% de rendimento obtido na metodologia que utilizou ácido láctico como material de partida.

Figura 30 - Reação de acilação da amida sintetizada com anidrido butírico.



Além disso, outros dois anidridos foram usados, os anidridos dos ácidos pentanóico e hexanóico, visando a avaliação do tamanho do radical acila na atividade de repelência das substâncias. A reação de esterificação foi efetuada em condições similares à já realizada, ou seja, na presença do anidrido e de piridina, tendo seus rendimentos e tempo de repelência descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Rendimento e tempo de repelência de cada produto obtido a partir da hidroxí amida.

Código	Estrutura	Rendimento (%)	Tempo de repelência (min)
9c		74	>600
10c		70	200
11c		38	530

4.2 PLANEJAMENTO FATORIAL

A rota sintética adotada para a esterificação do álcool secundário é a reação empregando piridina e anidrido butírico. Apesar do bom rendimento, do ponto de vista

ambiental, não é uma reação desejável, principalmente por se utilizar um excesso tão grande de piridina, que nesse caso funciona tanto como solvente quanto como catalisador.

Numa tentativa de tentar diminuir esse excesso de piridina, utilizou-se de análise multivariada, montando-se um planejamento fatorial 2^2 tipo estrela, com os níveis descritos na Tabela 4 e a disposição dos ensaios na Tabela 5. A quantidade da amida utilizada foi fixada em 0,5 mmol e a quantidade de anidrido, 0,75 mmol. O tempo de reação foi fixado em 24 h.

Tabela 4 - Níveis e variáveis utilizados para a análise multivariada da reação de acilação das hidroxi amidas.

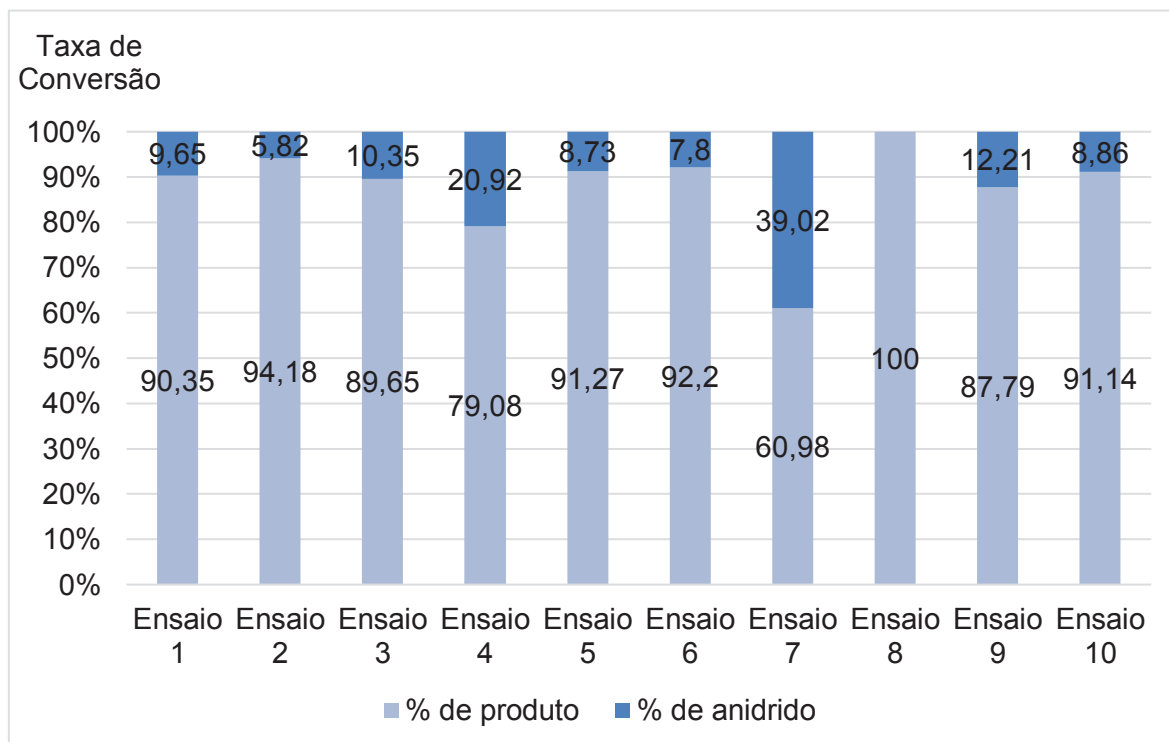
Variáveis	Níveis				
Temperatura (°C)	$-\sqrt{2}$	-1	0	+1	$+\sqrt{2}$
	28	30	35	40	42
Concentração de piridina (mmol)	0,14	0,25	0,5	0,75	0,85

Tabela 5 – Resultado do planejamento experimental realizado.

Ensaio	Temperatura (°C)	Quantidade de piridina (mmol)	Rendimento (%)
1	-1	-1	52
2	+1	-1	82
3	-1	+1	88
4	+1	+1	56
5	$-\sqrt{2}$	0	60
6	$+\sqrt{2}$	0	97
7	0	$-\sqrt{2}$	50
8	0	$+\sqrt{2}$	92
9	0	0	80
10	0	0	74

Os rendimentos das reações foram satisfatórios em todos os ensaios, variando entre 64 e 98% e uma análise primária foi feita através de CG-EM avaliando a taxa de conversão do produto após a extração, conforme mostrado na Figura 31.

Figura 31 - Gráfico de porcentagem de conversão de produto das hidroxi amidas nos derivados acilados



Olhando para o gráfico acima, observa-se primeiramente que o melhor resultado se apresentou no ensaio 8, atingindo 100% de rendimento após 24 h. Porém, esse ensaio é efetuado no nível + $\sqrt{2}$ para a quantidade de piridina (0,85 mmol) e nível 0 em temperatura (35 °C), o que é menos desejável. Entretanto, é possível verificar que no ensaio 2, que é efetuado com a temperatura no nível +1 (40 °C) e quantidade de piridina no nível -1 (0,25 mmol), obteve-se uma taxa de conversão de 94% do produto e com rendimento de 87%. Portanto, o ensaio 2 foi considerado a melhor condição para a ocorrência dessa reação.

4.3 UTILIZAÇÃO DE CATALISADORES HETEROGÊNEOS PARA A REAÇÃO DE ACILAÇÃO

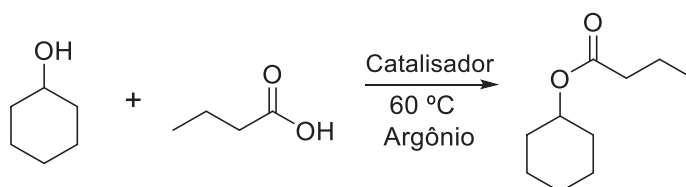
Apesar da diminuição na proporção de piridina utilizada para a etapa de acilação, visando um projeto em escala industrial ou mesmo um olhar mais voltado a química verde, o ideal seria um processo em que nenhum solvente fosse utilizado.

Uma maneira de efetuar reações de acilação sem solvente poderia ser pensada com a utilização de catalisadores heterogêneos. Em geral, seu uso resolve algumas limitações inatas da utilização de catalisadores homogêneos, como a dificuldade de

separação e de recuperação do catalisador. Além disso, o uso de um catalisador heterogêneo apresenta vantagens como menor toxicidade, reutilização do catalisador, facilidade no manuseio e ser considerado mais ambientalmente “correto”[66].

Portanto, testou-se a viabilidade da utilização de um argilomineral ativado cedido pelo professor Dr. Fernando Wypych nas acilações de álcoois secundários com ácidos carboxílicos. O ciclohexanol foi utilizado como modelo e uma reação com ácido butanóico, nas proporções 1:1 e 5% de relação massa/massa do catalisador, foi testada nas condições descritas no Esquema 6. O acompanhamento foi feito por CG-EM e, após 24 horas, observou-se a conversão de somente 30% do álcool. Um excesso de ácido carboxílico foi adicionado ao meio reacional, mas não houve um aumento no rendimento do produto.

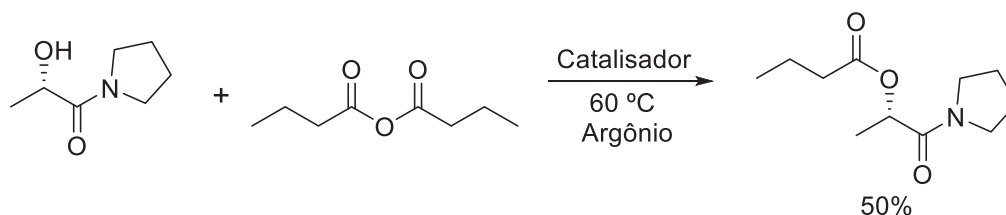
Esquema 6 - Reação de acilação de álcool secundário.



De posse desses dados, testou-se a reação do ciclohexanol com anidrido butírico nas mesmas condições descritas anteriormente. Após 8 h de reação, observou-se completa conversão do álcool. O rendimento final da reação foi de 98%.

Testou-se também, em pequena escala, a amida produzida pela reação com o lactato de etila, nas mesmas condições anteriores (Esquema 7).

Esquema 7 - Reação de acilação da amida.



O rendimento final da reação foi de 50%. Ao se comparar com a rota clássica utilizando catalisador homogêneo, menos viável e com um rendimento parecido (62%), validou-se a utilização dessa rota sintética para a obtenção do repelente.

Com base nesses dados, vislumbrou-se a utilização de catalisador heterogêneo com assistência de micro-ondas substituindo o aquecimento convencional. Para a otimização das condições reacionais, montou-se um planejamento fatorial 2² com os níveis descritos na Tabela 6 e os ensaios realizados na Tabela 7. A quantidade de ciclohexanol utilizada foi fixada em 1 mmol e a quantidade de anidrido em 1,2 mmol e a reação ocorreu até conversão total do produto.

Tabela 6 - Níveis e variáveis utilizados para a análise multivariada na reação de acilação usando catalisador heterogêneo e micro-ondas.

Variáveis	Níveis		
Temperatura (°C)	-1	0	+1
	60	75	90
Quantidade de catalisador (% m/m)	5	7,5	10

Tabela 7 – Resultado do planejamento fatorial realizado em microondas.

Ensaio	Temperatura (°C)	Quantidade de catalisador (%)	Tempo (min)
1	-1	-1	30
2	+1	-1	15
3	-1	+1	15
4	+1	+1	30
5	0	0	15
6	0	0	15
7	0	0	15

Com os ensaios realizados, as respostas obtidas foram que a melhor condição para a reação desse experimento se deu no ensaio 2, utilizando o nível +1 para temperatura (90 °C) e nível -1 para quantidade de catalisador adicionada (5%), havendo conversão total do produto com apenas 15 minutos de reação.

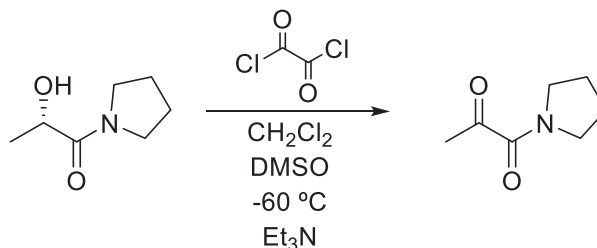
Finalmente, foram testadas essas condições otimizadas para a obtenção do produto 9c e o rendimento final obtido foi de 68% para uma reação ocorrida em três horas.

4.4 ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ENANTIÔMEROS

De posse da amida enantiomericamente pura obtida a partir do (L)-lactato de etila, tentou-se obter o racemato e o outro enantiômero do produto, para melhor compreender o efeito da estereoquímica na repelência do composto.

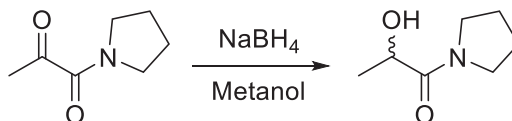
A estratégia para a obtenção do racemato consistiu em utilizar a oxidação de Swern[67], afim de oxidar o álcool para cetona, conforme mostrado no Esquema 8.

Esquema 8 - Oxidação de Swern.



A próxima etapa consistiu na redução da cetona através de reação clássica com borohidreto de sódio (Esquema 9). A utilização desse reagente garantiu que a reação fosse quimiosseletiva, reduzindo somente a cetona, levando à obtenção do álcool em sua forma racêmica com um rendimento de 62%.

Esquema 9 - Redução de cetona a álcool.



Esse álcool foi então acilado sob condições já descritas anteriormente, com piridina e anidrido. Essa série de reações resultaram na síntese dos dois enantiômeros do composto, conforme foi confirmado por análise em polarímetro. A Tabela 8 mostra a diferença entre as rotações específicas de cada composto e seus tempos de repelência.

Tabela 8 - Diferenças na atividade biológica do composto enantiomericamente puro e o racemato.

Estrutura	α_d^{20}	Tempo de repelência (min)
	-71,57	+720
	0,00	600

Observou-se que a mistura racêmica apresentou uma repelência ligeiramente inferior do que quando se utilizou o estereoisômero S.

4.5 FORMULAÇÃO EM CREME DO REPELENTE

Como teste inicial, foi realizado a mistura do repelente 9c em um creme comercial qualquer, na concentração de 20% do composto repelente, que trataremos como M1.

Essa mistura então foi testada frente ao mosquito *A. aegypti* da mesma forma que já havia sido testado, conforme o procedimento 3.7.

Outra formulação, dessa vez com um creme desenvolvido na Universidade Estadual de Ponta Grossa, foi testada na mesma concentração de 20% do composto repelente e será tratada como M2.

Os resultados de repelência podem ser verificados na Tabela 9.

Tabela 9 - Testes de repelência realizados com diferentes formulações.

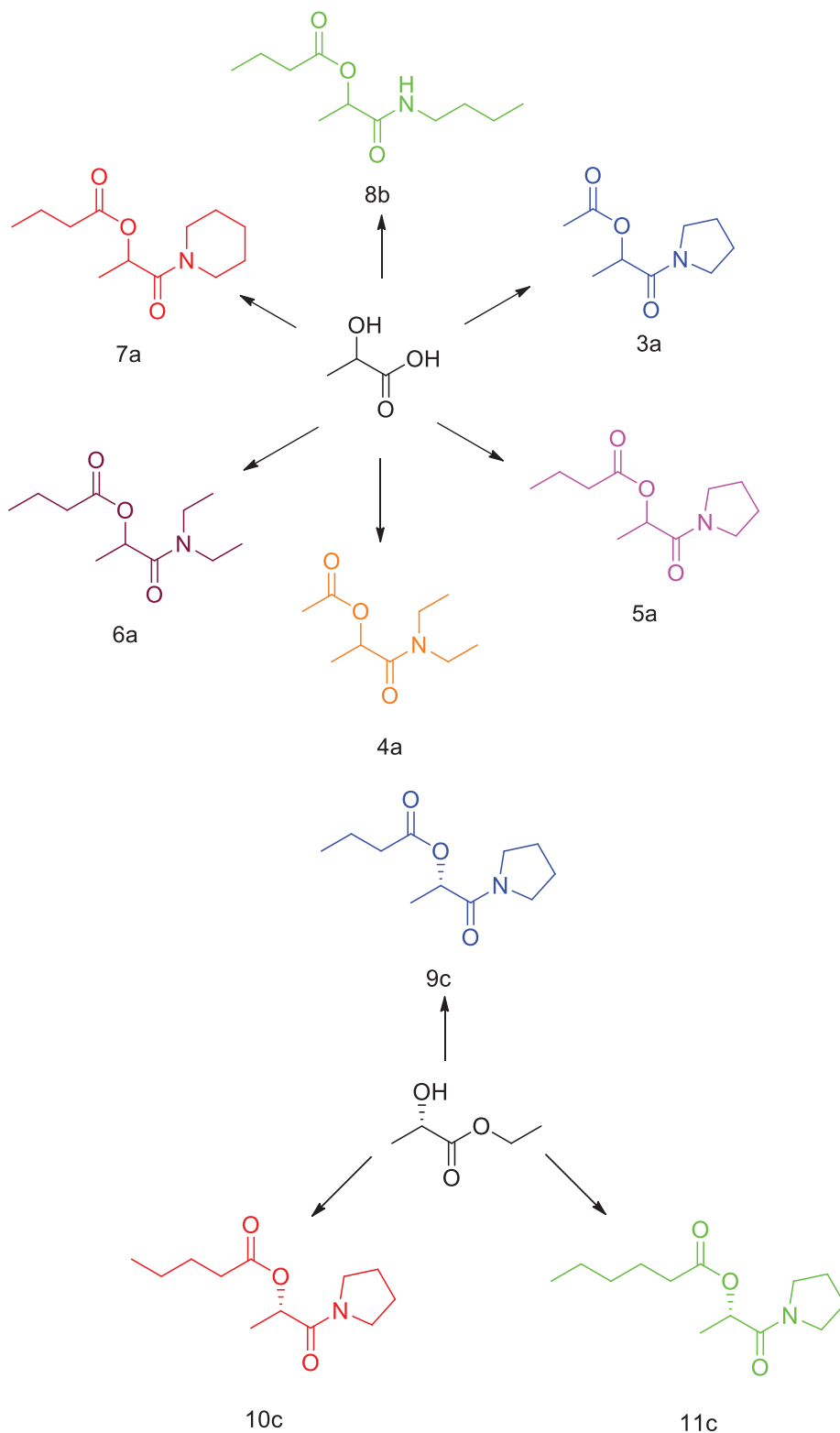
Formulação	Tempo de repelência (min)
M1	420
M2	>720

Conclui-se assim, que a segunda formulação não interferiu na capacidade de repelência do composto testado, enquanto que a formulação com creme comercial diminuiu a sua eficácia.

Isso pode ter sido devido à fragrância própria do creme comercial ter interferido na ação do repelente, já que na segunda formulação, o creme utilizado não apresentava qualquer cheiro característico.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Várias substâncias contendo as funções éster e amida foram sintetizadas, com sucesso, a partir do (L)-ácido láctico e do (L)-lactato de etila e tiveram suas atividades de repelência frente ao mosquito *A. aegypti* determinadas. Um fluxograma dessas substâncias é mostrado abaixo:



A substância 9c, derivada de materiais acessíveis e de baixo custo, apresentou elevada eficiência nos testes de laboratório, mostrando mais de 10 horas de repelência. Estudos preliminares mostraram que essa substância pode ser sintetizada, em duas etapas reacionais, ambas sem solvente. Estudos posteriores deverão ser realizados visando otimizar as condições reacionais da segunda etapa da síntese, visando a síntese desse repelente em grande escala através de uma rota que respeite os preceitos da Química Verde.

A substância de interesse será sintetizada em maior escala e será enviada para laboratório fora da universidade para ter seu poder repelente determinado, bem como sua toxidez dérmica e ocular e sua reatividade frente a outros materiais como plásticos, testes necessários para que uma molécula seja aprovada pela ANVISA como repelente comercial.

Também foi determinado que o enantiômero *S* apresenta efeito de repelência pouco superior que a mistura racêmica. O poder de repelência do esteroisômero (*R*) deverá ser determinado em etapa futura.

Ainda se chegou a uma formulação do repelente com um creme desenvolvido pela Universidade Estadual de Ponta grossa que não interferia no seu tempo de repelência e pode ser, futuramente, utilizado como fórmula comercial.

Ressalta-se que esses estudos devem levar ao primeiro repelente de alta eficiência desenvolvido na América Latina e pode auxiliar o governo brasileiro a estudar medidas visando minimizar a transmissão das enfermidades causadas pelo *A. aegypti*, que se constituem no principal caso de saúde pública no Brasil.

REFERÊNCIAS

- [1] CARVALHO, S. E. S. et al. Comparative analysis of American Dengue virus type 1 full-genome sequences. **Virus Genes**, v. 40, n. 1, p. 60–66, 2009.
- [2] LAMBRECHTS, L.; SCOTT, T. W.; GUBLER, D. J. Consequences of the Expanding Global Distribution of *Aedes albopictus* for Dengue Virus Transmission. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, vol. 4, n. 5, 2010.
- [3] REGIS, L. N.; et al. Sustained reduction of the dengue vector population resulting from an integrated control strategy applied in two Brazilian cities. **PloS one**, v. 8, n. 7, 2013.
- [4] WONG, S. S. Y.; POON, R. W. S.; WONG, S. C. Y. Zika virus infection-the next wave after dengue? **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 115, n. 4, p. 226–242, 2016.
- [5] GUBLER, D. J. The changing epidemiology of yellow fever and dengue, 1900 to 2003: full circle? **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 27, n. 5, p. 319–330, 2004.
- [6] WHO. Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control. p. 84, 1997.
- [7] ERNST, K. C.; et al. *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Longevity and Differential Emergence of Dengue Fever in Two Cities in Sonora, Mexico. **Journal of Medical Entomology**, v. 54, n. 1, p. 204–211, 2017.
- [8] MORENO-MADRINÁN, M. J.; TURELL, M. Factors of Concern Regarding Zika and Other *Aedes aegypti*-Transmitted Viruses in the United States. **Journal of Medical Entomology**, v. 7, 2017.
- [9] BANGS, M. J.; TAN, R.; LISTIYANINGSIH, E.; KAY, B. H.; PORTER, K. R. Detection of Dengue Viral RNA in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Exposed to Sticky Lures Using Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 5, p. 720–724, 2001.
- [10] ZARA, A. L. DE S. A.; SANTOS, S. M.; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e serviços de saúde : revista do Sistema Unico de Saúde do Brasil**, v. 25, n. 2, p. 391–404, 2016.
- [11] BRADY, O. J.; GETHING, P. W.; BHATT, S.; MESSINA, J. P.; BROWNSTEIN, J. S.; HOEN, A. G.; MOYES, C. L.; FARLOW, A. W.; SCOTT, T. W.; HAY, S. I. Refining the Global Spatial Limits of Dengue Virus Transmission by Evidence-Based Consensus. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 8, 2012.
- [12] ARAÚJO, H. R. C.; CARVALHO, D. O.; IOSHINO, R. S.; COSTA-DA-SILVA, A. L.; CAPURRO, M. L.; *Aedes aegypti* Control Strategies in Brazil: Incorporation of New Technologies to Overcome the Persistence of Dengue Epidemics. **Insects**, v. 6, n. 2, p.

576–594, 2015.

[13] BHATT, S.; et al. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 504–507, 2013.

[14] AZEVEDO, E. **Casos de dengue aumentam quase 600% no Brasil em 2019, aponta Ministério da Saúde**. Disponível em: <<https://oglobo.globo.com/sociedade/casos-de-dengue-aumentam-quase-600-no-brasil-em-2019-aponta-ministerio-da-saude-23942229>>. Acesso em: 12 set. 2019.

[15] DUPONT-ROUZEYROL, M.; et al. Chikungunya virus and the mosquito vector *Aedes aegypti* in New Caledonia (South Pacific Region). **Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)**, v. 12, n. 12, p. 1036–41, 2012.

[16] MALAVIGE, G. N.; FERNANDO, S.; FERNANDO, D. J.; SENEVIRATNE, S. L. Dengue viral infections. **Postgrad Med J**, v. 80, n. 948, p. 588–601, 2004.

[17] BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, p. 279–293, 2007.

[18] BALDACCHINO, F.; CAPUTO, B.; CHANDRE, F.; DRAGO, A.; DELLA TORRE, A.; MONTARSI, F.; RIZZOLI, A. Control methods against invasive *Aedes* mosquitoes in Europe: a review. **Pest Management Science**, v. 71, n. 11, p. 1471–1485, 2015.

[19] DA SILVA, H. H.; DA SILVA, I. G. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 4, p. 349–355, 1999.

[20] PRUD'HOMME, S. M.; CHAUMONT, A.; CASSAR, E.; DAVID, J. P.; REYNAUD, S. Impact of micropollutants on the life-history traits of the mosquito *Aedes aegypti*: On the relevance of transgenerational studies. **Environmental Pollution**, v. 220, p. 242–254, 2017.

[21] HENRIQUE, M.; PAIVA, S. **Caracterização molecular da resistência a inseticidas químicos em populações de *Aedes aegypti***. 2013. 195 f. Fundação Oswaldo Cruz. 2013.

[22] MS/FUNASA. Controle de Vetores Procedimentos de Segurança. In: FUNASA, M. DA S.- (Ed.). 1º ed. [s.l: s.n.]. p. 121.

[23] WAQUIL, J. M. **Manejo integrado de pragas: revisão história e perspectivas**. Sete Lagoas, MG: [s.n.].

[24] PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 174–187, 2015.

[25] SHAALAN, E. A.-S. S.; CANYON, D. DV D.; YOUNES, M. W. F.; ABDEL-WAHAB, H.; MANSOUR, A-H. H. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. **Environment International**, v. 31, n. 8, p. 1149–1166, 2005.

[26] DOLAN, M. C.; PANELLA, N. A. A review of arthropod repellents. **ACS Symposium**

Series, v. 1090, p. 1–19, 2011.

[27] MAIBACH, H. I.; AKERS, W. A.; JOHNSON, H. L.; KHAN, A. A.; SKINNER, W. A. Insects. Topical insect repellents. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 16, n. 5 PART 2, p. 970–973, 1974.

[28] LUPI, E.; HATZ, C.; SCHLAGENHAUF, P. The efficacy of repellents against *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* and *Ixodes* spp. - A literature review. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 11, n. 6, p. 374–411, 2013.

[29] ANNIE, V. Determinação Estrutural, Síntese e Aplicação de Compostos de Origem Botânica e ou Derivados Sintéticos Visando o Controle Populacional e o Efeito de Repelência do Mosquito *Aedes aegypti*. Universidade Federal do Paraná. 2012.

[30] CHOOCHOTE, W.; CHAITONG, U.; KAMSUK, K.; JITPAKDI, A.; TIPPAWANGKOSOL, P.; TUETUN, B. Repellent activity of selected essential oils against *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, v. 78, n. 5, p. 359–364, 2007.

[31] BERNIER, U. R.; TSIKOLIA, M. Development of novel repellents using structure-activity modeling of compounds in the USDA archival database. **ACS Symposium Series**, v. 1090, p. 21–46, 2011.

[32] ISLAM, J.; ZAMAN, K.; DUARAH, S.; RAJU, P. S.; CHATTOPADHYAY, P. Mosquito repellents: An insight into the chronological perspectives and novel discoveries. **Acta Tropica**, v. 167, n. 2, p. 216–230, 2017.

[33] PAUMGARTTEN, F. J. R.; DELGADO, I. F. Repelentes de mosquitos, eficácia para prevenção de doenças e segurança do uso na gravidez. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 4, n. 2, p. 97–104, 2016.

[34] CARLOS, P.; ANDRADE, F. S. Repelentes de Mosquitos – Base Técnica para Avaliação. **Ecologia Aplicada**, p. 9, 2008.

[35] SFARA, V.; MOUGABURE-CUETO, G.; ZERBA, E. N.; ALZOGARAY, R. A. Adaptation of the repellency response to DEET in *Rhodnius prolixus*. **Journal of Insect Physiology**, v. 57, n. 10, p. 1431–1436, 2011.

[36] LEGEAY, S.; CLERE, N.; APAIRE-MARCHAIS, V.; FAURE, S.; LAPIED, B. Unusual modes of action of the repellent DEET in insects highlight some human side effects. **European Journal of Pharmacology**, v. 825, p. 92–98, 2018.

[37] TAVARES, M.; DA SILVA, M. R. M.; DE SIQUEIRA, L. B. DE O.; RODRIGUES, R. A. S.; BODJOLLE-D'ALMEIRA, L.; DOS SANTOS, E. P.; RICCI-JÚNIOR, E. Trends in insect repellent formulations: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 539, n. 1–2, p. 190–209, 2018.

[38] ISENMANN, A. F. **Princípios Químicos em Produtos Cosméticos e Sanitários**. Timóteo-MG: [s.n.].

[39] OLIFERENKO, P. V.; et al. Promising *Aedes aegypti* Repellent Chemotypes Identified

through Integrated QSAR, Virtual Screening, Synthesis, and Bioassay. **PLoS ONE**, v. 8, n. 9, p. 1–13, 2013.

[40] SURYANARAYANA, M. V. S.; PANDEY, K. S.; PRAKASH, S.; EAGHUVVEERAN, C. D.; DANGI, R. S.; SWAMY, R. V.; RAO, K. M. Structure-Activity Relationship Studies with Mosquito Repellent Amides. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 80, n. 11, p. 1055–1057, 1991.

[41] ORTIZ, M. Reações Átomo-Econômicas Em Síntese Orgânica. Universidade Federal de Pelotas. 2007.

[42] MEIER, L. DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA PARA ACETILAÇÃO DE NUCLEOSÍDEOS E α -METILENO- β -HIDRÓXI ÉSTERES (Derivados de Morita-Baylis-Hillman) EMPREGANDO CATÁLISE HETEROGÊNEA. Universidade Federal de Santa Catarina. 2007.

[43] RAMOS, M. A. F. D'ALMEIDA C. Química Verde – potencialidades e dificuldades da sua introdução no ensino básico e secundário. Universidade de Lisboa. 2009.

[44] LENARDÃO, E. J.; FREITAG, R. A.; DABDOUB, M. J.; BATISTA, A. C. F.; SILVEIRA, C. C. “Green chemistry” - Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 123–129, 2003.

[45] DA SILVA, F. M.; DE LACERDA, P. S. B.; JONES, J. Desenvolvimento sustentável e química verde. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 103–110, 2005.

[46] SANSEVERINO, A. M. Síntese Orgânica Limpa. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 102–107, 2000.

[47] PETERSON, C.; COATS, J. Insect repellents - Past, present and future. **Pesticide Outlook**, v. 12, n. 4, p. 154–158, 2001.

[48] OLIVEIRA, S. L. DE. **Métodos de Análise de Repelência em Aedes aegypti (Culicidae, Diptera) Utilizando Produtos Naturais**. 2008.

[49] GHAFAR, T.; IRSHAD, M.; ANWAR, Z.; AQIL, T.; ZULIFQAR, Z.; TARIQ, A.; KAMRAN, M.; EHSAN, N.; MEHMOOD, S. Recent trends in lactic acid biotechnology: A brief review on production to purification. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v. 7, n. 2, p. 222–229, 2014.

[50] WANG, Y.; TASHIRO, Y.; SONOMOTO, K. Fermentative production of lactic acid from renewable materials: Recent achievements, prospects, and limits. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 119, n. 1, p. 10–18, 2015.

[51] LUZ, R. DA. Bioprodução de Ácido Láctico a Partir do Resíduo de Isolado Proteico de Soja. p. 42, 2014.

[52] ARIKAYA, A.; ÜNLÜ, A. E.; TAKAÇ, S. Use of deep eutectic solvents in the enzyme catalysed production of ethyl lactate. **Process Biochemistry**, v. 84, p. 53–59, 2019.

[53] KASINATHAN, P.; KWAK, H.; LEE, U.; HWANG, D. W.; HWANG, Y. K.; CHANG, J-S.

Synthesis of ethyl lactate from ammonium lactate solution by coupling solvent extraction with esterification. **Separation and Purification Technology**, v. 76, n. 1, p. 1–7, 2010.

[54] CORREIA, M.E.A.; FREITAS, J.C.R.; FREITAS, J. J. R. ET AL. Investigação do Fenômeno de Isomeria: Concepções Prévias dos Estudantes do Ensino Médio e Evolução Conceitual. **Revista Ensaio**, v. 12, n. 2, p. 83–100, 2010.

[55] MOSCOSO, C. T. ESTUDO DE PROCESSO CONTÍNUO DE SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DE ENANTIÔMEROS DO PRAZQUANTEL. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2015.

[56] DOS SANTOS, A. R.; PINHEIRO, A. C.; SODERO, A. C. R.; DA CUNHA, A. S.; PADILHA, M. C.; DE SOUSA, P. M.; FONTES, S. P.; VELOSO, M. P.; FRAGA, C. A. M. Atropoisomerismo: O efeito da quiralidade axial em substâncias bioativas. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 125–135, 2007.

[57] LIMA, V. L. E. Os fármacos e a quiralidade: Uma breve abordagem. **Química Nova**, v. 20, n. 6, p. 657–663, 1997.

[58] CREMASCO, M. A. A fronteira da indústria farmacêutica no Brasil: enantiômeros. **Ciência e Cultura**, v. 65, n. 3, p. 4–5, 2013.

[59] KLUN, J. A.; SCHMIDT, W. F.; DEBBOUN, M. Stereochemical Effects in an Insect Repellent. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 6, p. 809–812, 2001.

[60] SIGMA-ALDRICH. **Handbook of Fine Chemicals**. Atlanta: Sigma-aldrich, 2008.

[61] ORNELAS, A.; KORCZYNSKA, M.; RAGUMANI, S.; KUMARAN, D.; NARINDOSHVILI, T.; SHOICHET, B. K.; SWAMINATHAN, S.; RAUSHEL, F. M. Functional annotation and three-dimensional structure of an incorrectly annotated dihydroorotase from cog3964 in the amidohydrolase superfamily. **Biochemistry**, v. 52, n. 1, p. 228–238, 2013.

[62] HONMA, T.; HAYASHI, K.; AOYAMA, T.; HASHIMOTO, N.; MACHIDA, T.; IWASAWA, Y. Structure-Based Generation of a New Class of Potent Cdk4 Inhibitors: **New de Novo Design Strategy and Library Design**. n. 3, p. 4615–4627, 2001.

[63] PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. 2ª edição ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015, p. 171.

[64] WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for Efficacy Testing of Mosquito Repellents for Human Skin**, 2009.

[65] PURUSHOTHAMAN, M.; KRISHNAN, P. S. G.; NAYAK, S. K. Poly(alkyl lactate acrylate)s having tunable hydrophilicity. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 21, p. 1–11, 2014.

[66] ZATTA, L. ARGILOMINERAIS MODIFICADOS COMO CATALISADORES PARA REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS. Universidade Federal do Paraná. 2013.

[67] RUFINO, A. R. Síntese da Prostagladina da Série 8-AZA-10-TIA-11-DESÓXI-PGE.

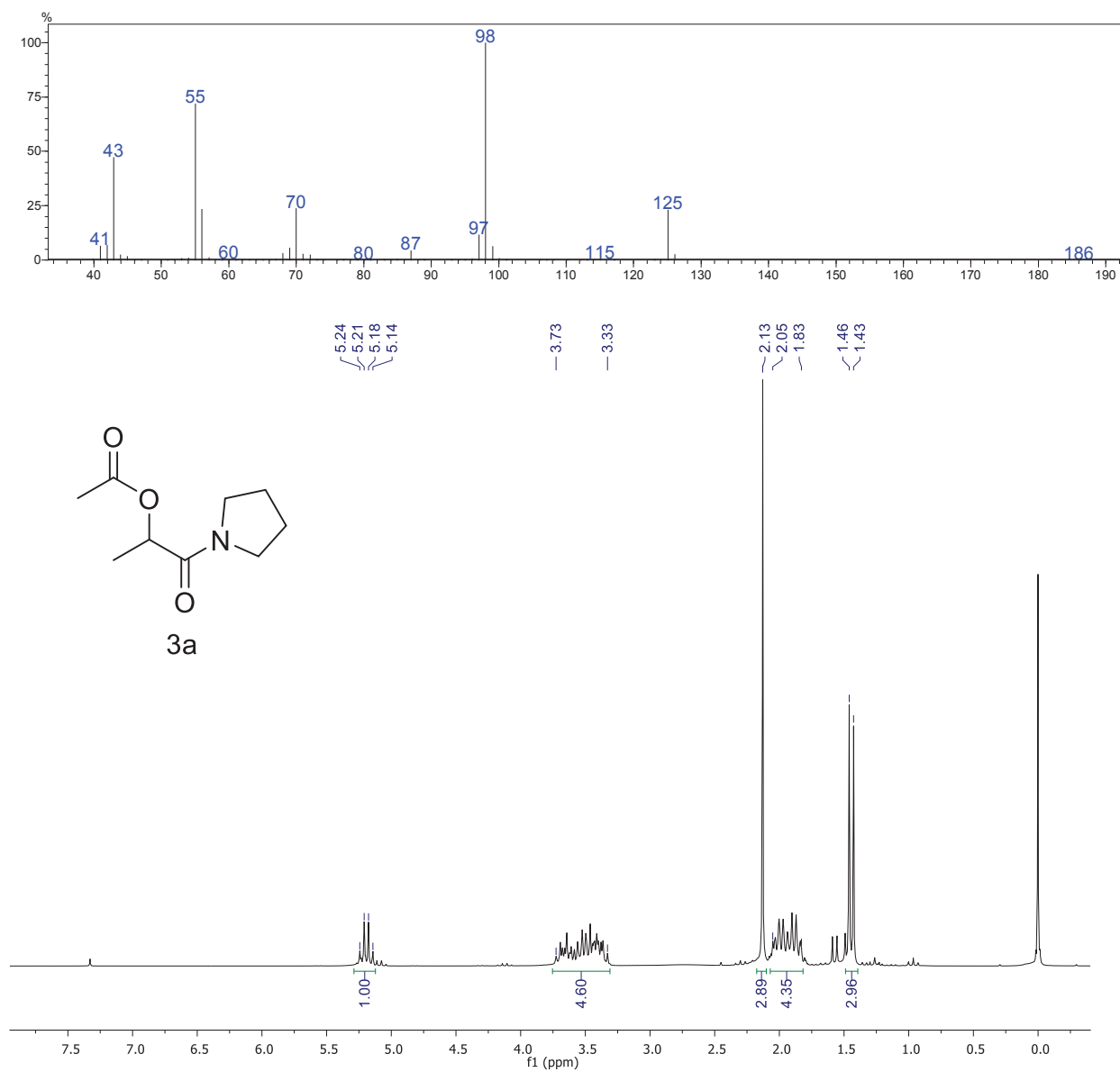
Universidade de São Paulo. 2000.

.

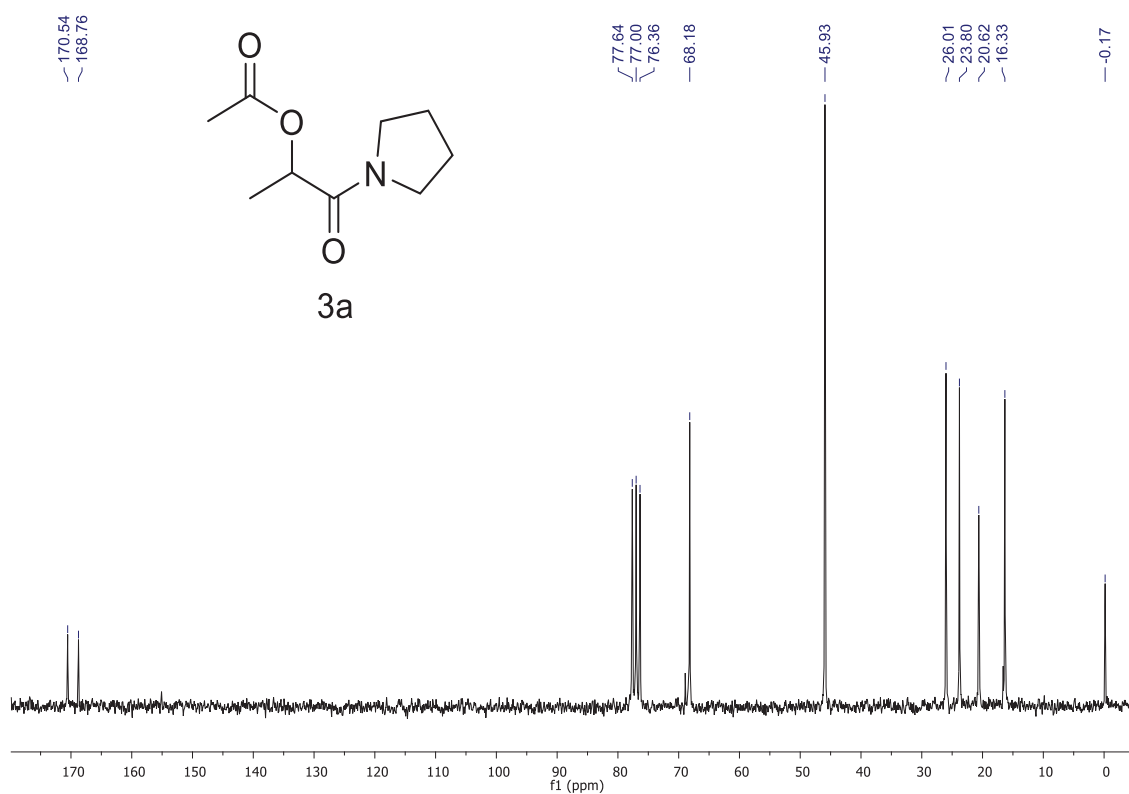
ANEXOS

ANEXO I – ESPECTROS SELECIONADOS

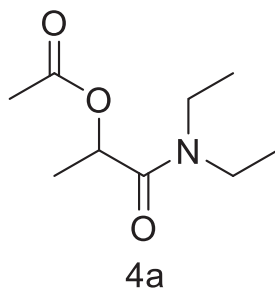
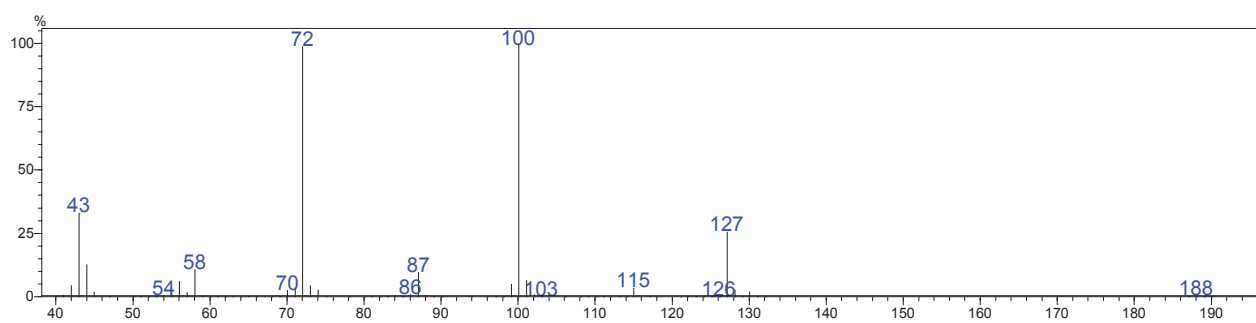
1 – Espectro de fragmentação de massas e RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do produto 3a.



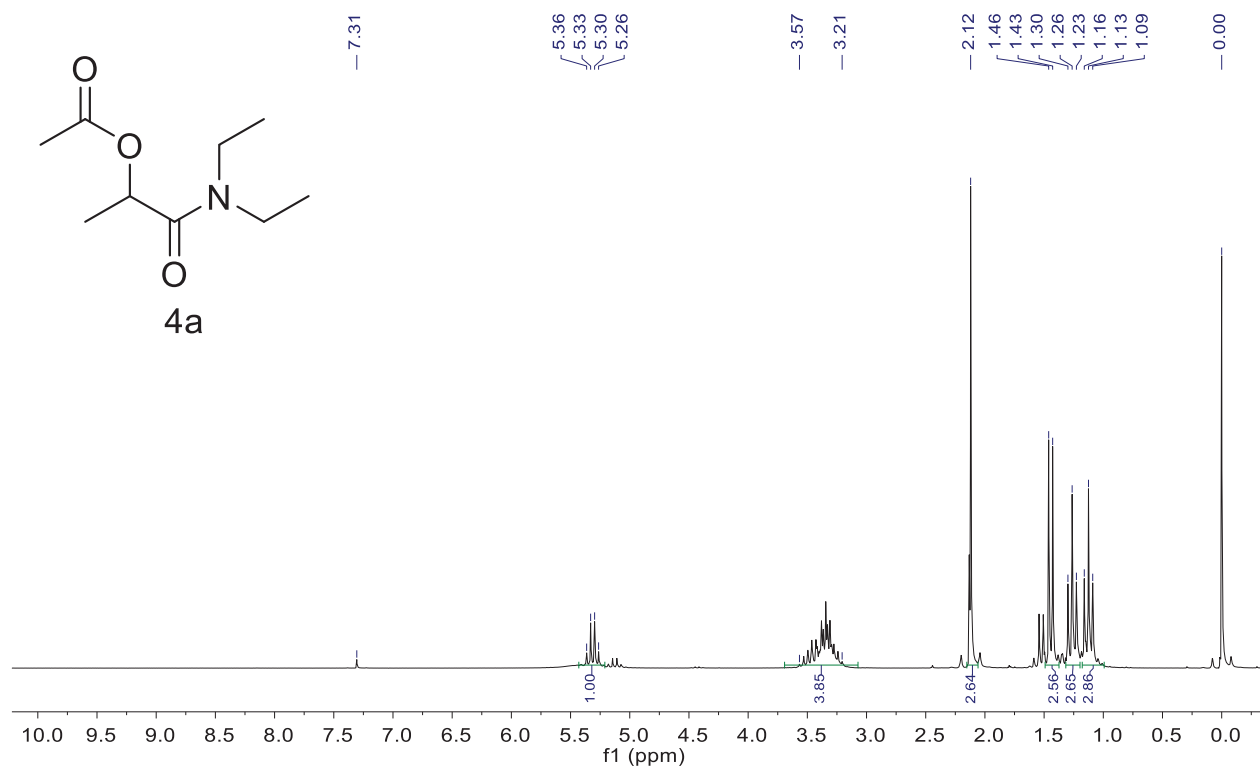
2 – Espectro de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do produto 3a.

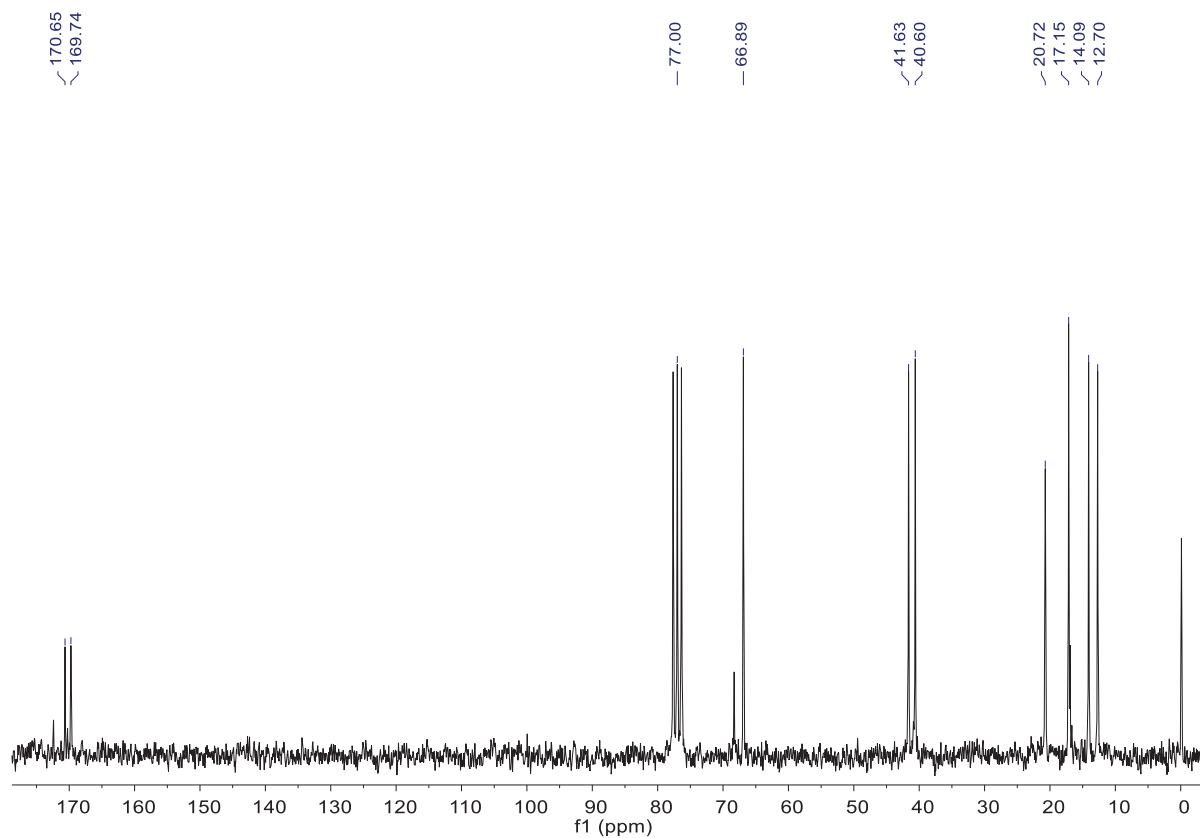


3- Espectro de fragmentação massas do produto 4a.

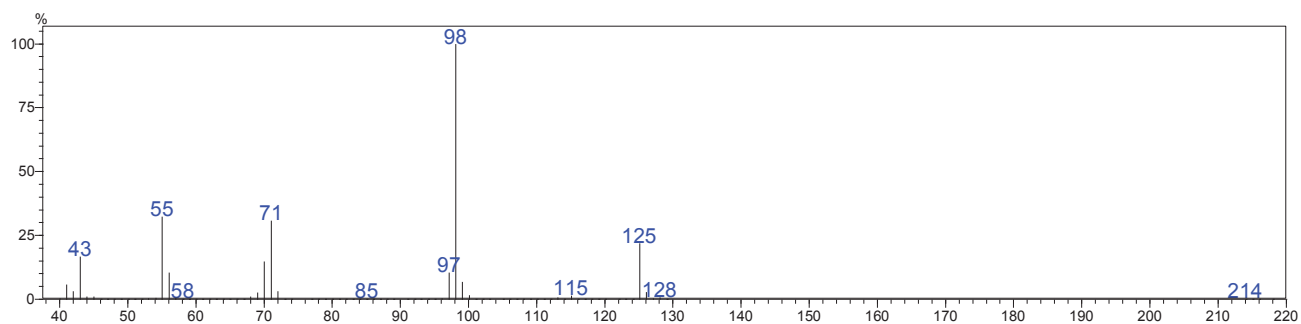


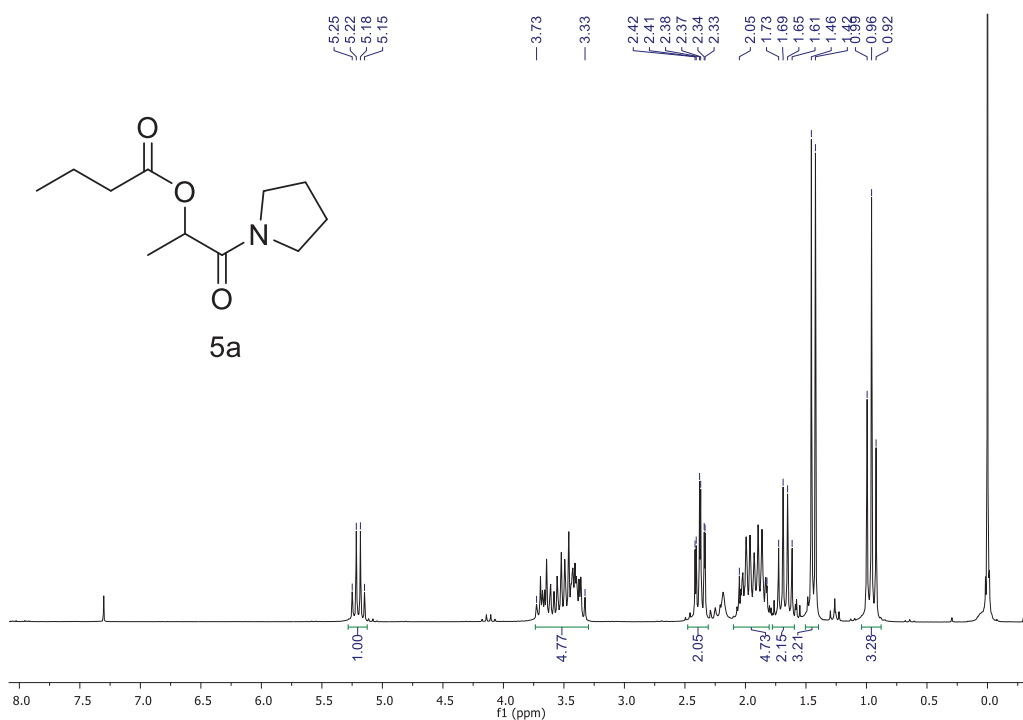
4 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) e ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do produto 4a.



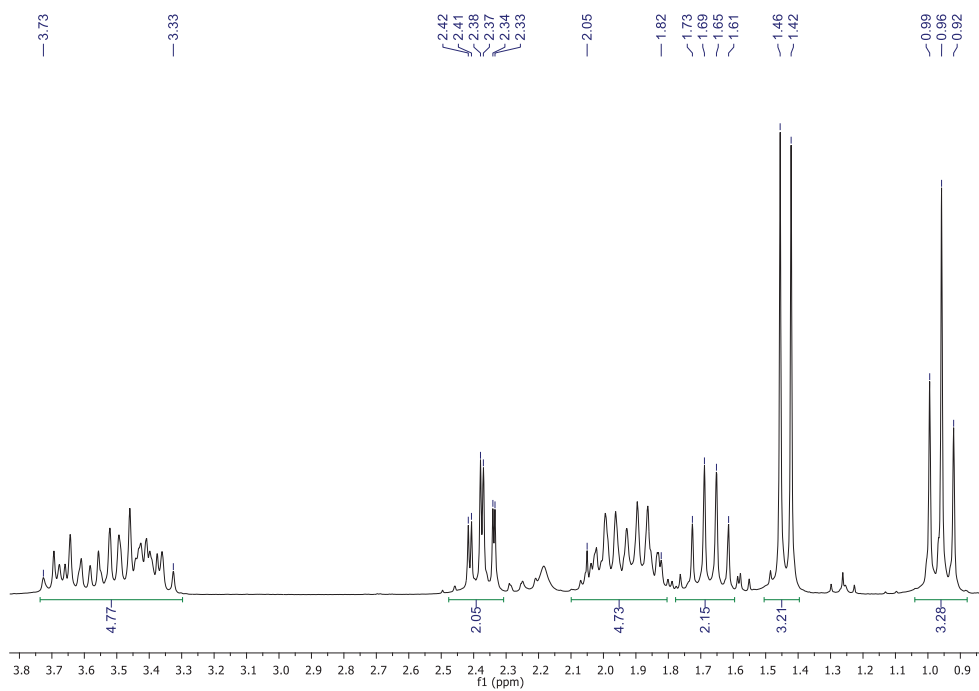


5- Espectro de fragmentação massas e RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) do produto 5a.

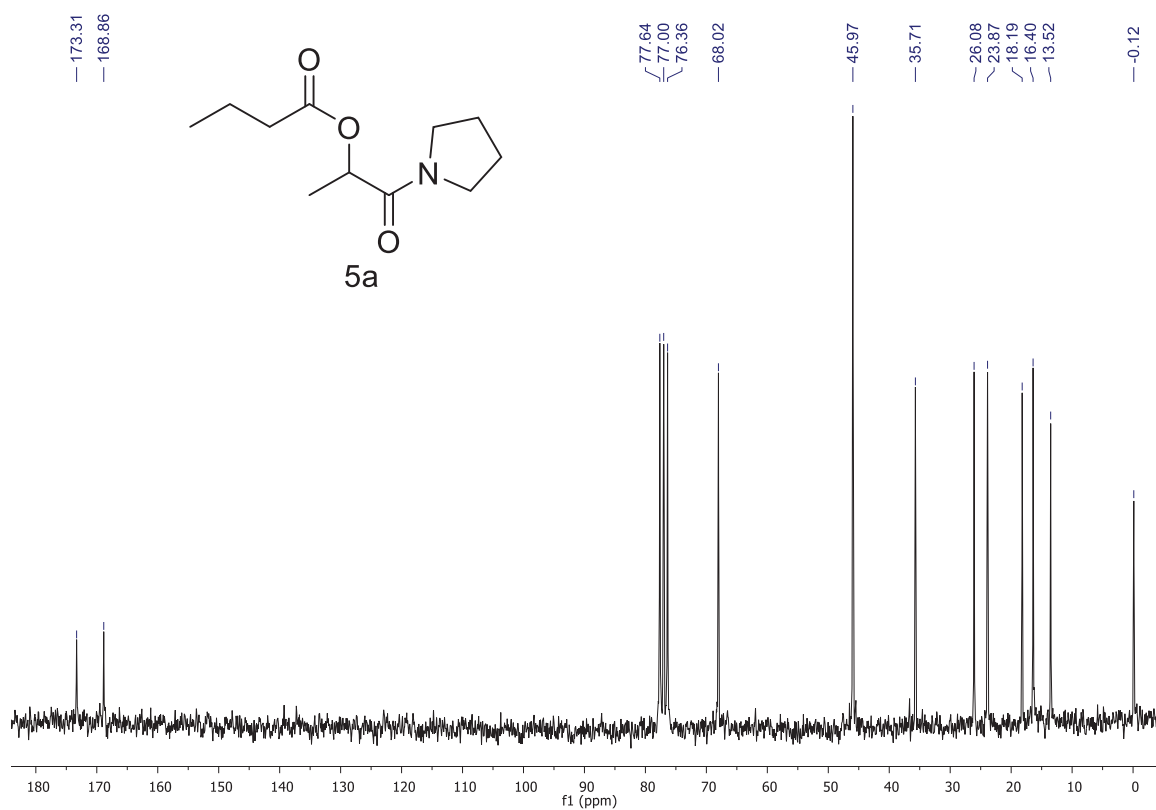




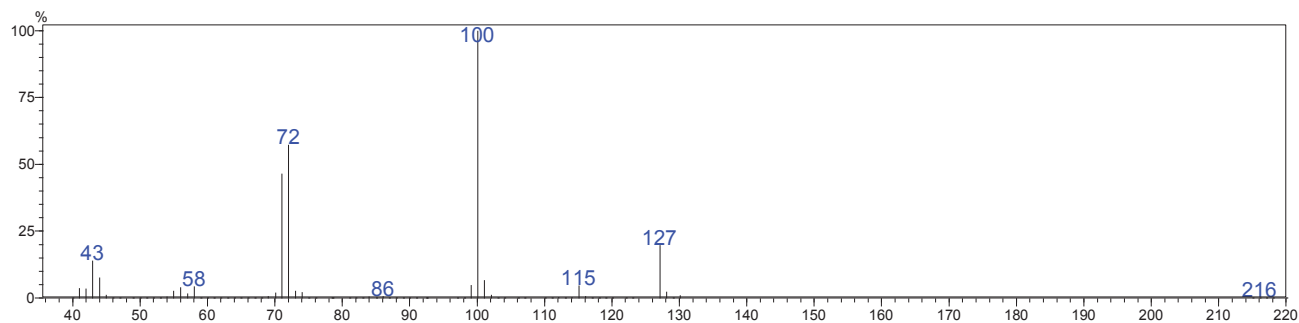
Região expandida entre 0,8-3,8 ppm do espectro de RMN de ^1H .



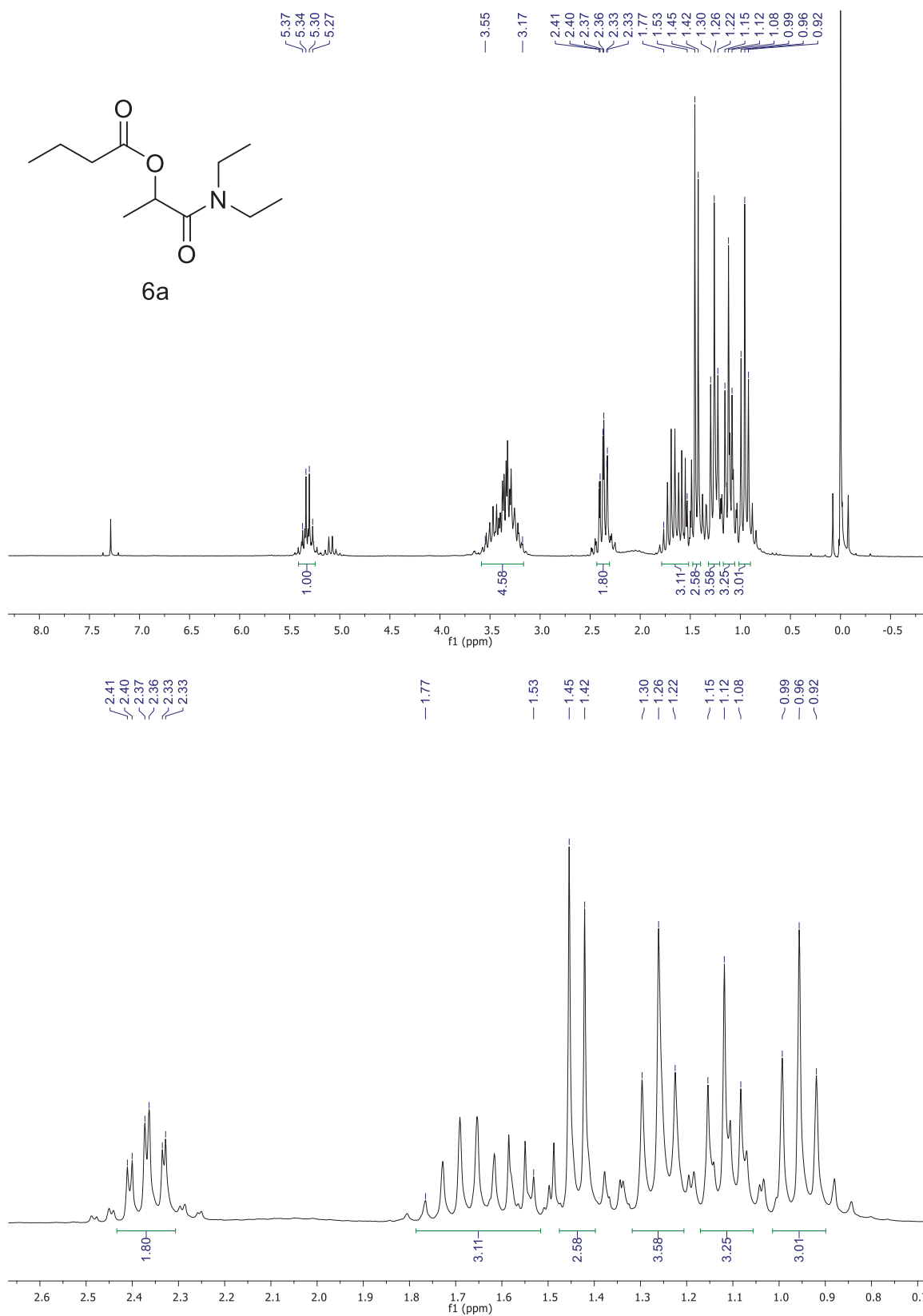
6 - Espectro de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do produto 5a.



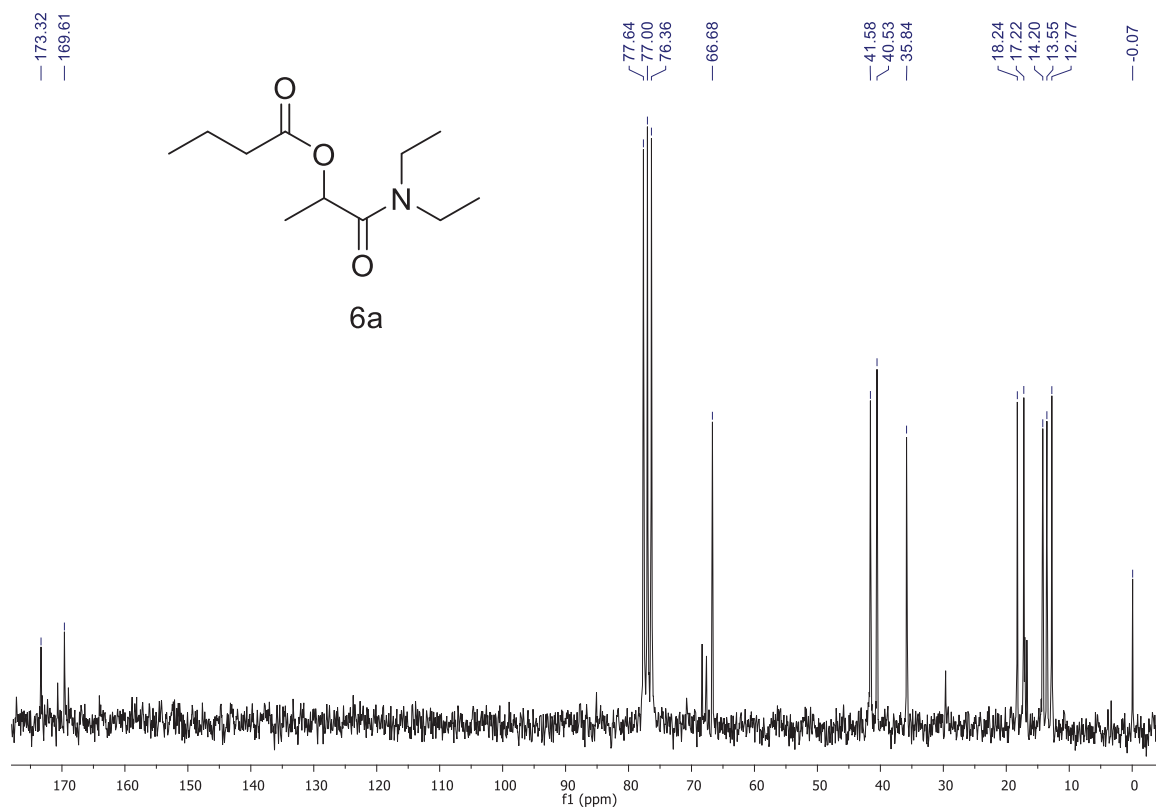
7 – Espectro de fragmentação massas do produto 6a.



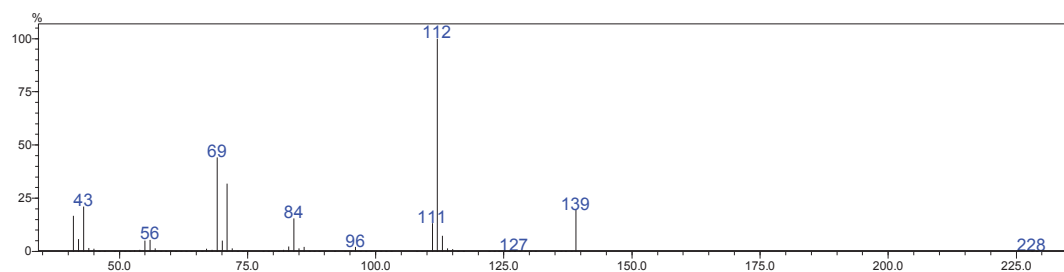
8 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do produto 6a e da região expandida entre 0,7-2,6 ppm.



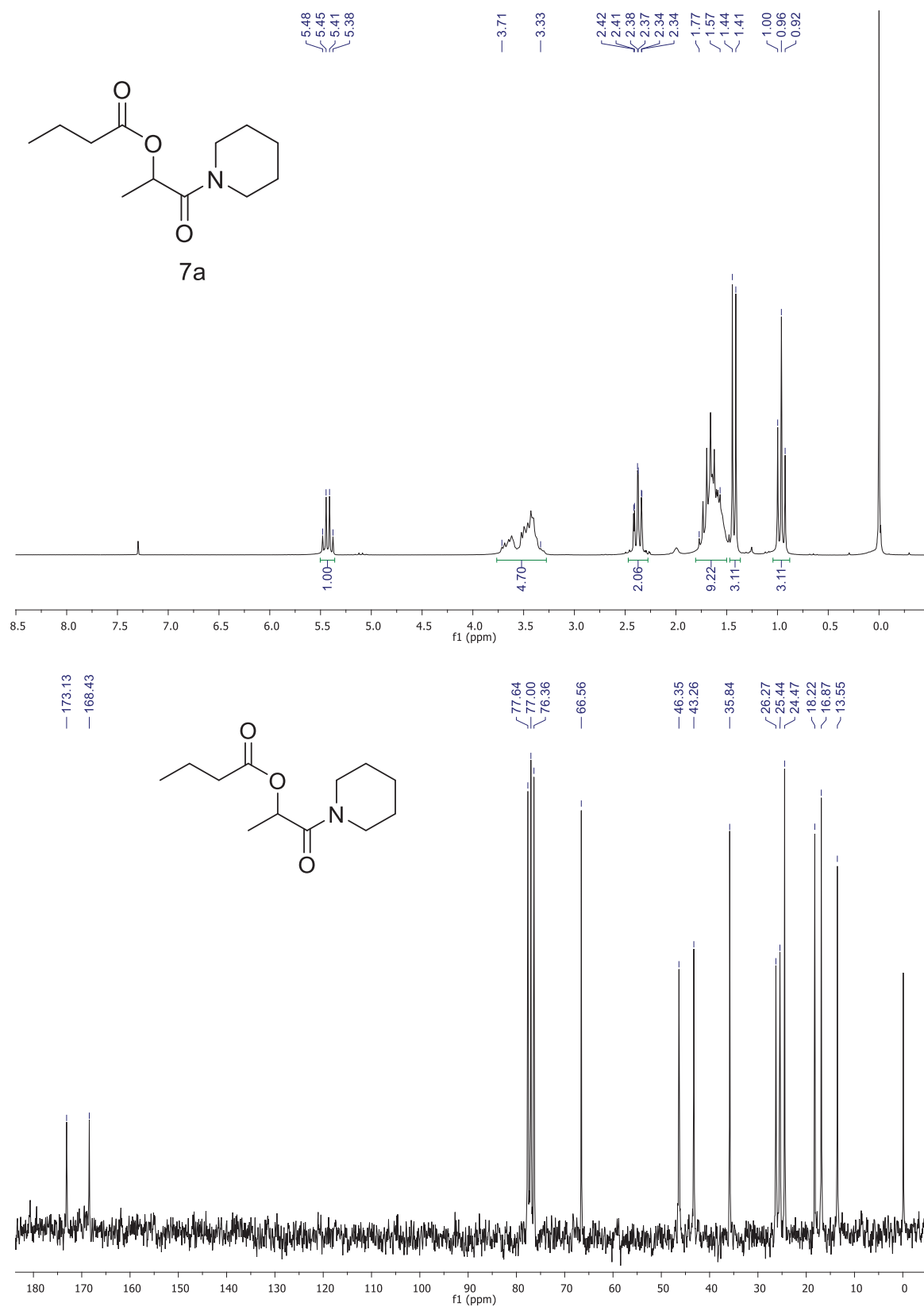
9 - Espectro de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do produto 6a.



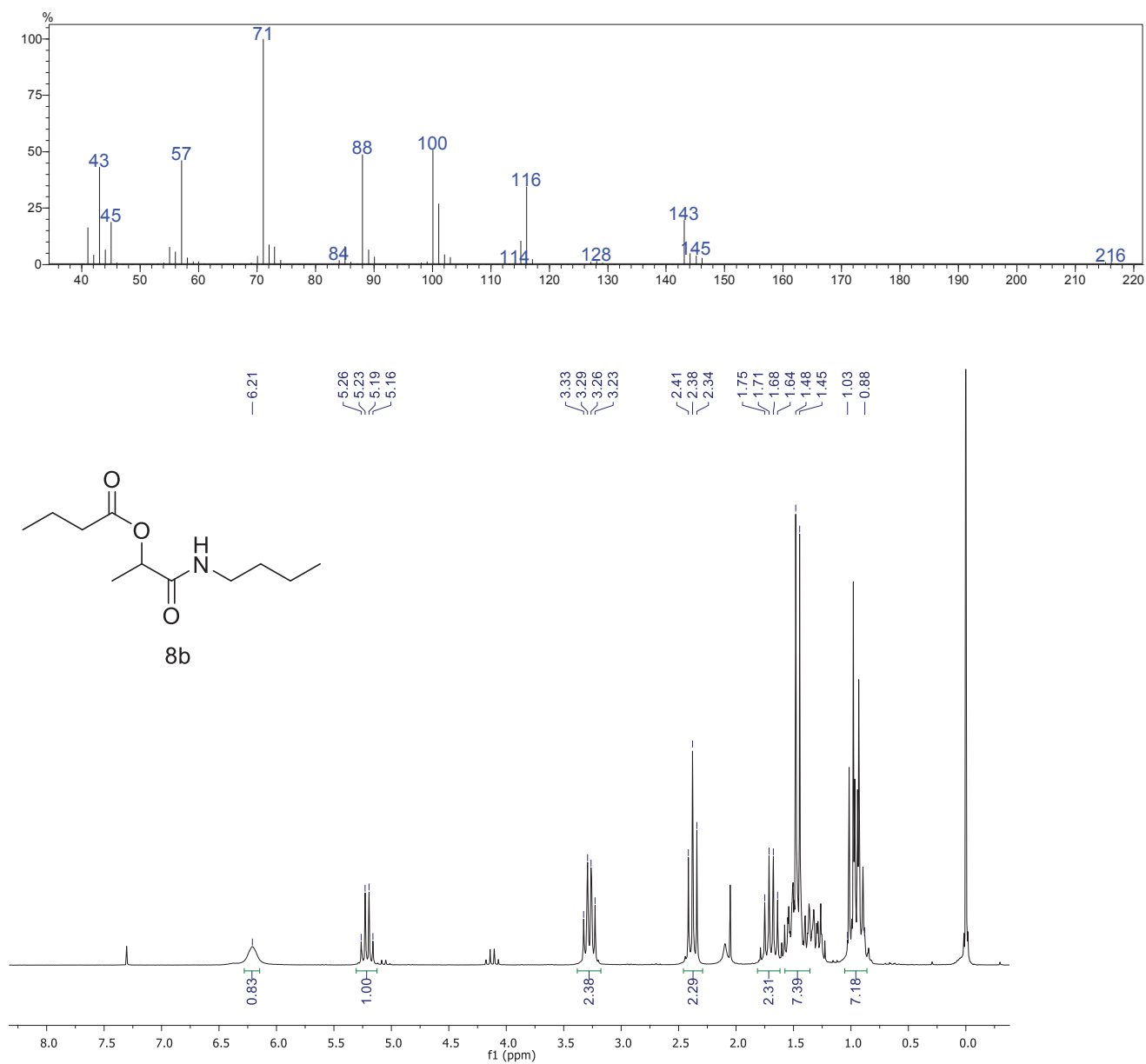
10 – Espectro de fragmentação de massas do produto 7a.

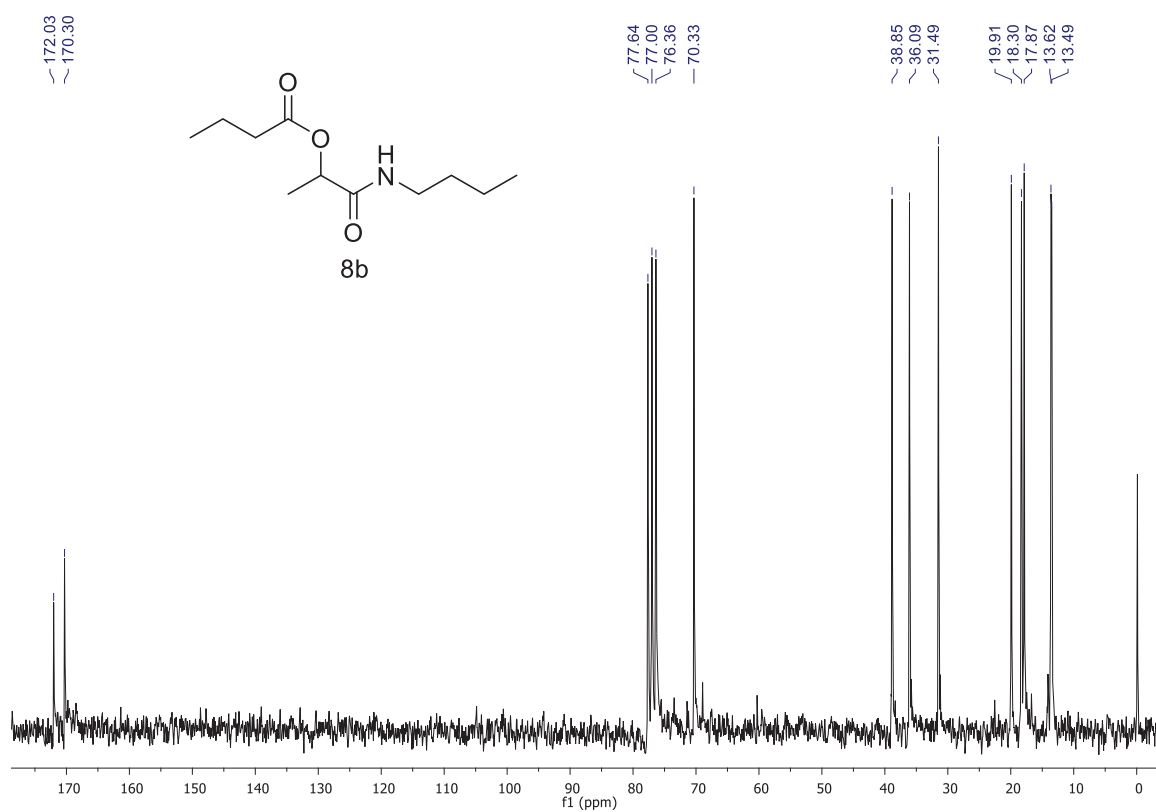


11 - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) e ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do produto 7a.

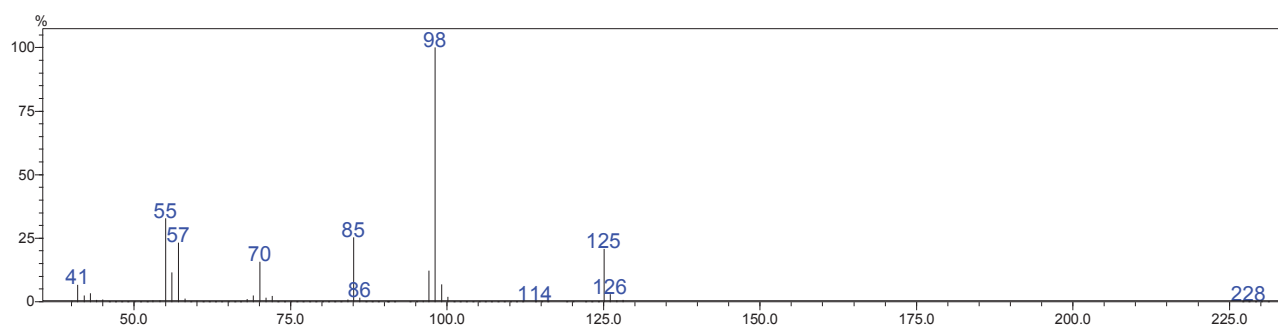


12 - Espectro de fragmentação de massas e RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do produto 8b.

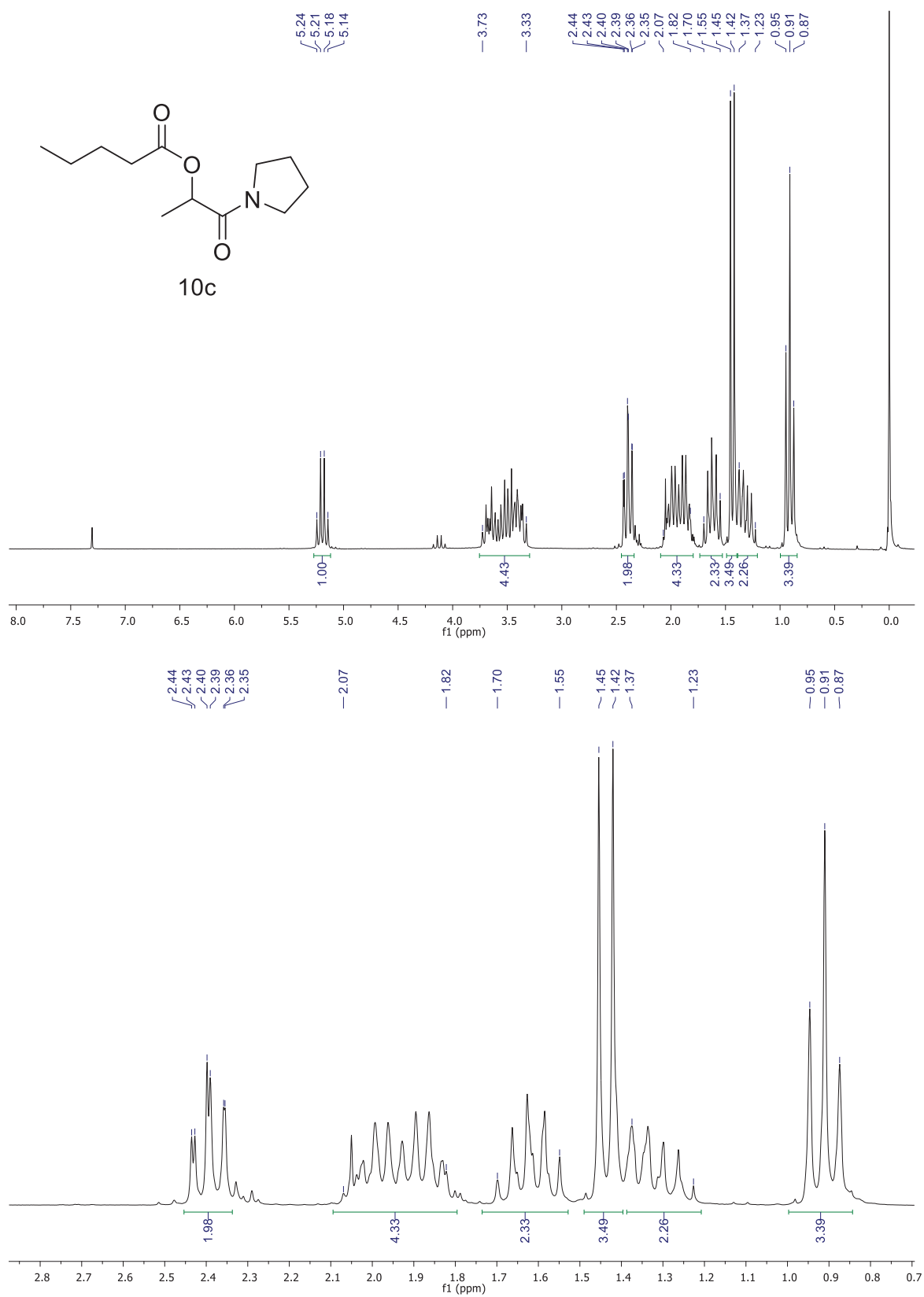


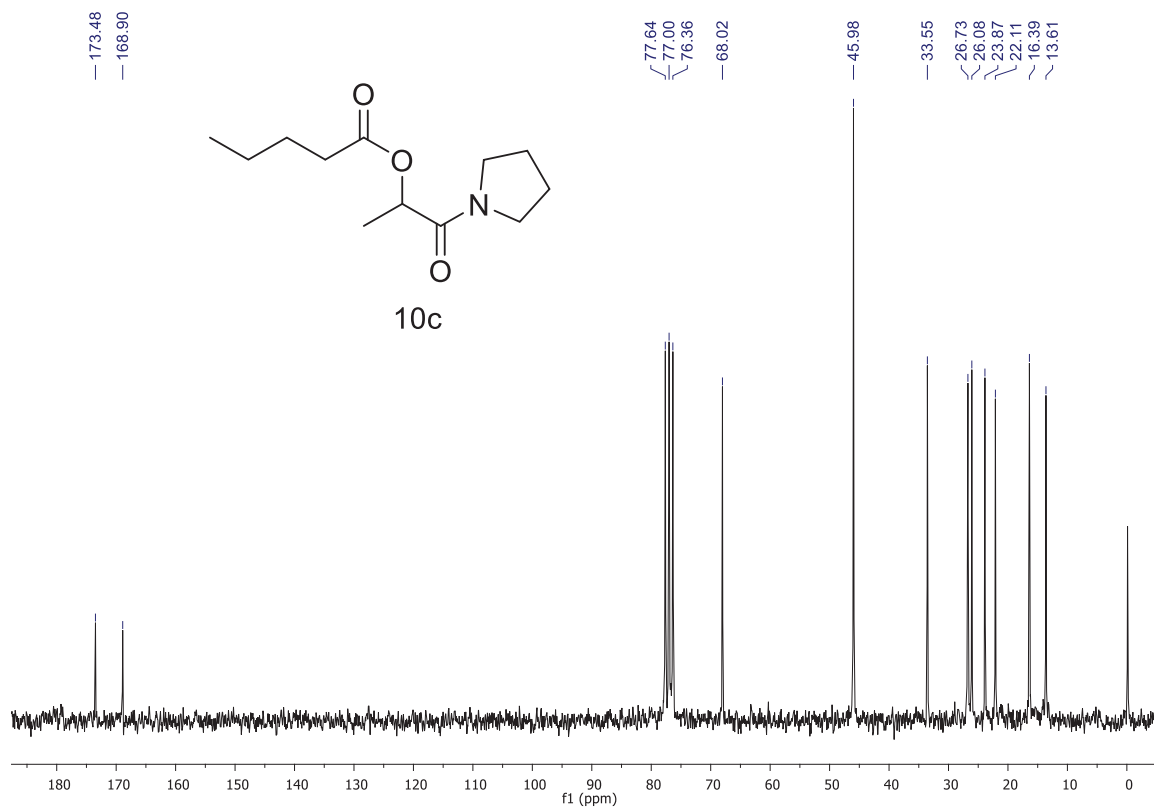
13 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do produto 8b.

14 – Espectro de fragmentação de massas do produto 10c.

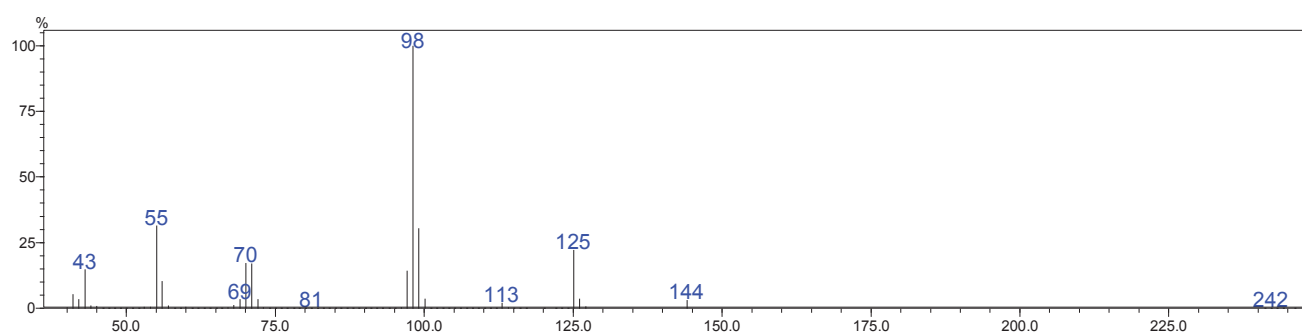


15 - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do produto 10c e sua região expandida entre 0,7-2,9 ppm.

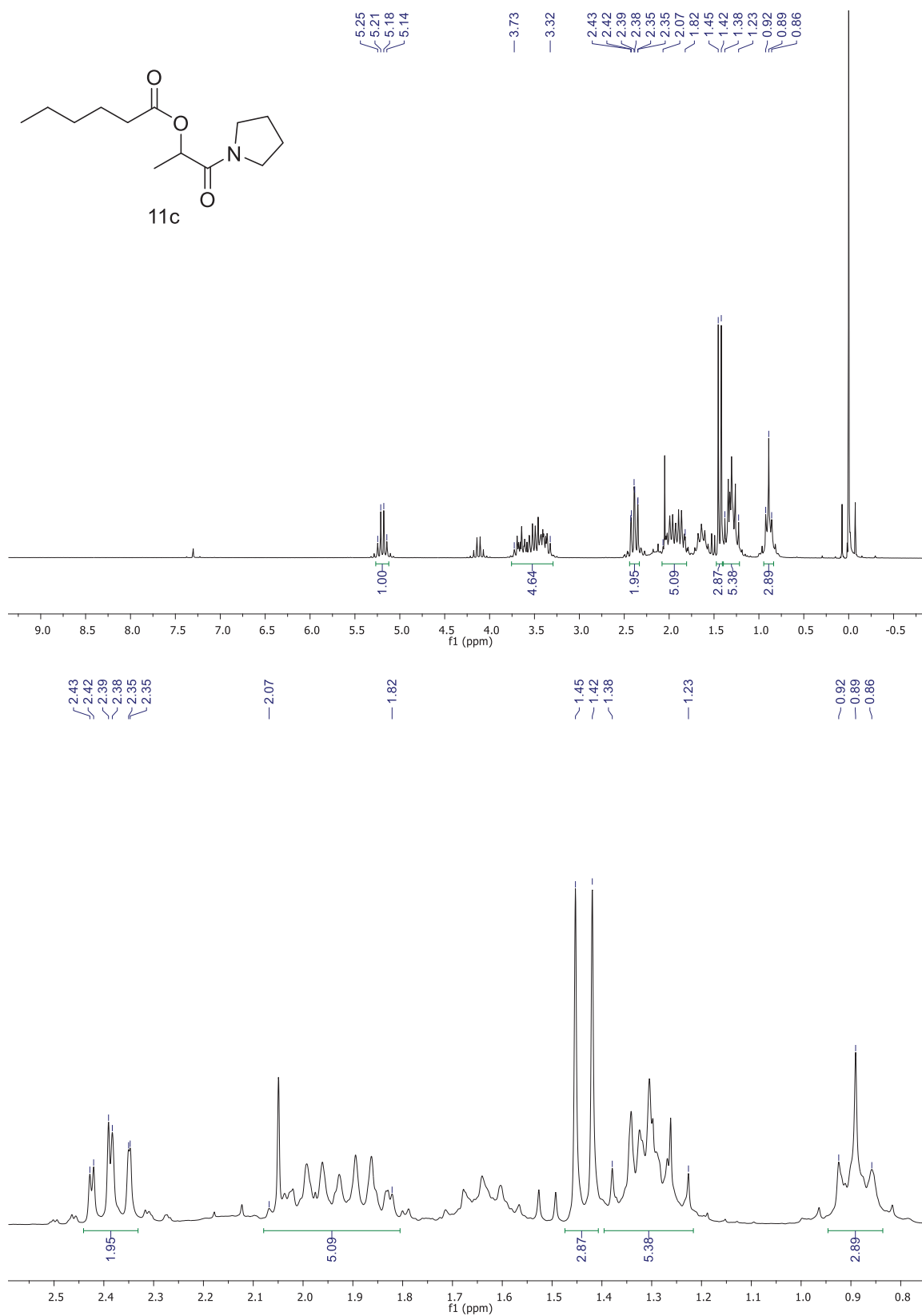


16 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do produto 10c.

17 – Espectro de fragmentação de massas do produto 11c.



18 - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do produto 11c e sua região expandida entre 0,8-2,6 ppm.



Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do produto 11c.

